



UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
DEPARTMAN ZA VETERINARSKU MEDICINU

HISTOLOŠKE ODLIKE MUKOZE ŽELUCA SVINJA U RAZLIČITIM USLOVIMA UZGOJA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: Prof.dr. Dušan Lalošević

redovni profesor

Kandidat: Nataša Pejčinovska

dr. vet.med.

Novi Sad, 2018. godine

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Nataša Pejčinovska
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr. Dušan Lalošević, redovni profesor
Naslov rada: NR	Histološke odlike mukoze želuca svinja u različitim uslovima uzgoja
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2018
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	21000 Novi Sad Trg Dositeja Obradovića 8
Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja / stranica / slika / grafikona / referenci / priloga) 8 poglavlja ,183 strane, 60 slika, 18 grafikona, 24 tabele i 488 citiranih referenci.

Naučna oblast: NO	Medicina - Veterinarska medicina
Naučna disciplina: ND	Veterinarska histologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Svinje, <i>Helicobacter spp.</i> , histološke metode, Sidnejski sistem klasifikacije gastritisa.
UDK	599.731.1:591.8
Čuva se: ČU	Biblioteka Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu
Važna napomena: VN	Nema
Izvod: IZ	<p>Bakterije koje kolonizuju želudac (<i>Gastrospirillum spp.</i> i <i>Helicobacter spp.</i>) su izolovane kod čoveka i nekoliko animalnih vrsta, uključujući i svinje. Gastritis je rezultat prirodne ili eksperimentalno izazvane infekcije sa <i>H. pylori</i> kod čoveka i konvencionalnih prasića. Kod obe vrste (čovek i svinja), infekcija sa <i>H. pylori</i> pokreće inflamatorni odgovor organizma, međutim postoje razlike u ćelijskoj populaciji u inflamatornom infiltratu. Cilj istraživanja ove disertaciji je identifikacija bakterije <i>Helicobacter spp.</i>, različite morfologije (<i>Helicobacter-like organisms</i> and <i>Gastrospirillum-like organisms</i>), kao i patohistološki pregled i evaluacija gastritisa svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način. Uzeti su uzorci mukoze <i>pars oesophagea</i>, fundusa i pilorusa. Za identifikaciju bakterije <i>Helicobacter spp.</i> korišćene su dve metode bojenja: Loeffler-methylene blue i modifikovana Giemsa. Za histološko ispitivanje, uzorci su obojeni i hematoksilin eozinom (H&E). Stepen gastritisa je određen prema Sidnejskom sistemu za klasifikaciju gastritisa. U humanoj a i u veterinarskoj patologiji, dobro je poznata činjenica o različitoj patogenosti različitih bakterija <i>Helicobacter</i> vrsta. <i>Helicobacter</i> bakterije izolovane iz želuca svinja pripadaju različitim vrstama ovog roda i međusobno se bitno razlikuju kako po patogenosti, tako i po virulentnosti. Tako na primer, <i>Helicobacter-like</i> bakterije koje su okarakterisane kao visoko patogene, mogu izazvati ulceracije ezofagealnog ili glandularnog dela želuca, gastritis ozbiljnog stepena i formiranje limfoidnih folikula. Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je stepen gastritisa veći u piloričnoj mukozi HLO-pozitivnih svinja u poređenju sa vrednostima GLO-pozitivnih svinja. Nije postojala pozitivna korelacija između infekcije bakterijama GLO morfologije i ulceracija. Za razliku od perzistentnih infekcija sa <i>H. pylori</i> kod ljudi kod kojih je teška glandularna atrofija udružena sa intestinalnom metaplazijom veoma česta, kod ispitivanih svinja iz</p>

	<p>intenzivnog i ekstenzivnog načina uzgoja nisu potvrđeni slučajevi atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije. Konvencionalne svinje mogu poslužiti kao animalni model infekcije sa <i>H. pylori</i> jer su svinje u funkcionalnom smislu monogastrične životinje po anatomskim i fiziološkim karakteristikama, vrlo slične čoveku. Takođe, patogeneza infekcije je veoma slična kao kod čoveka. Navedene činjenice podržavaju mogućnost upotrebe ovog modela u daljem istraživanju patogeneze nastanka <i>Helicobacter spp.</i> gastritisa. Rezultati ovog istraživanja pružaju dodatni dokaz da HLO mogu biti faktor koji igra krucijalnu ulogu u patogenezi gastritisa kod svinja.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	
Datum odbrane: DO	
<p>Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO</p>	<p>Mentor: _____ Prof.dr. Dušan Lalošević, redovni profesor Medicinski fakultet, Novi Sad</p> <p>Predsednik: _____ Prof.dr. Gordana Ušćebrka, redovni profesor Poljoprivredni fakultet, Novi Sad</p> <p>Član: _____ Prof.dr. Senad Prašović, redovni profesor Veterinarski fakultet, Sarajevo</p> <p>Član: _____ Prof. Dr Vesna Lalošević. redovni profesor Poljoprivredni fakultet, Novi Sad</p>

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Nataša Pejčinovska
Mentor: MN	Dr. Dušan Lalošević, full professor
Title: TI	Histologic features of gastric mucosa of pigs in different production systems
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	English / Serbian
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2018
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Dositeja Obradovića sq.8

Physical description: PD	No. of chapters 8, No. of pages 183, No. of pictures 60, No of graphs 18, No of tables. 24, No. of cited references 488.
Scientific field SF	Medicine - Veterinary medicine
Scientific discipline SD	Veterinary histology
Subject, Key words SKW	Swine, <i>Helicobacter spp.</i> , histological techniques, The Sydney system for classification of gastritis
UC	599.731.1:591.8
Holding data: HD	Library at Faculty of Agriculture Novi Sad
Note: N	None
Abstract: AB	<p>Bacteria that colonize the stomach (<i>Helicobacter spp.</i> and <i>Gastrospirillum spp.</i>) are isolated from humans and several animal species, including pigs. Gastritis is the result of a natural or experimental induced infection with <i>H. pylori</i> in humans and conventionally pigs. In both, humans and pigs, the infection with <i>H. pylori</i> elicited inflammatory response, but there are differences between populations of inflammatory cells. The aims of this dissertation are to identify <i>spp.</i> with two different morphology (<i>Helicobacter-like organisms</i> and <i>Gastrospirillum-like organisms</i>), as well as histopathological examination and evaluation of gastritis score of gastric mucosa of pigs in intensive and extensive production. Biopsy samples were taken from the pars oesophagea, fundic and pyloric mucosa. For identification of <i>Helicobacter</i> species morphology we used two stain methods: Loeffler-methylene blue and modified Giemsa. All tissue sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E) for histopathological evaluation. The severity of gastritis was scored to the Sydney System for the classification of gastritis. In human as well as in veterinary pathology, the fact of the different pathogenicity of various <i>Helicobacter</i> species is well known. The <i>Helicobacter spp.</i> isolated from stomach mucosa of pigs which belong to different genus, differ significantly in both, pathogenicity and virulence. <i>Helicobacter pylori-like</i> bacteria characterised as high pathogenic, has been associated with ulceration of the oesophageal or glandular portion of the stomach, severe gastritis and formation of lymphoid follicles. On the contrast, infection with <i>Helicobacter heilmannii</i>, which has been shown to have low pathogenicity was accompanied by only mild gastritis and no ulceration. The results of current study suggested that the average gastritis score was higher in HLO-positive pyloric mucosa, compared</p>

	<p>with the GLO-positive pyloric mucosa. There was significance between HLO-positive and HLO-negative pyloric mucosa in both, intensive and extensive production. There was no correlation between GLO-positive mucosa and ulceration. In contrast to persistent <i>H. pylori</i> infection in humans in which severe glandular atrophy associated with intestinal metaplasia is very common, in examined pigs from intensive and extensive breeding, no samples exhibited histological features characteristic for atrophic gastritis and intestinal metaplasia have been confirmed in pigs of both production systems. The conventional piglets as an animal model of the human <i>H. pylori</i> infection offers advantages of a functional monogastric animal with gastric anatomic and physiologic characteristics similar to those of humans. Moreover, the infection and pathogenesis is similar to that in humans. These facts support the usefulness of this model in further research on the pathogenic mechanisms of <i>Helicobacter spp.</i> associated gastritis. Our findings provide further evidence that HLO can be one of the factors that playing a crucial role in the pathogenesis of gastritis in pigs.</p>
Accepted on Senate on: AS	
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>Mentor:_____</p> <p style="text-align: center;">Dr Dušan Lalošević, full professor Medical Faculty, University of Novi Sad</p> <p>President:_____</p> <p style="text-align: center;">Dr Gordana Ušćebrka, full professor Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <p>Member:_____</p> <p style="text-align: center;">Dr. Senad Prašović, full professor Veterinary Faculty, University of Sarajevo</p> <p>Member:_____</p> <p style="text-align: center;">Dr Vesna Lalošević, full professor Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p>

IZJAVA ZAHVALNOSTI

„Zahvalnost nije samo najveća od svih vrlina, nego i majka svih ostalih”. – Ciceron

Posebnu zahvalnost dugujem:

Svom mentoru, prof. dr. Dušanu Laloševiću koji je svojom stručnom i nesebičnom podrškom omogućio nastanak ove doktorske disertacije;

Članovima komisije za ocenu i odbranu, prof. dr. Gordani Ušćebrki, prof. dr. Senadu Prašoviću i prof. dr. Vesni Lalošević na korisnim sugestijama i savetima tokom izrade disertacije;

Osoblju odeljenja za Patologiju i citologiju u sklopu kliničkog centra „Dr. Trifun Panovski“ - Bitolj na pomoći tokom procesuiranja uzoraka i izrade histoloških preparata;

Kolegama koji su pružili profesionalnu i ljudsku pomoć u svim fazama realizacije ove disertacije;

Svojoj porodici, bez čije podrške i razumevanju realizacija ove disertacije ne bi bila moguća.

Nataša Pejčinovska

LISTA SKRAĆENICA

AB/PAS - Alcian blue/periodic acid Schiff
Alp A, Alp B - Adherence associated lipoproteins A, B
Ap 1 - Activating protein - 1
APUD - Amine precursor uptake and decarboxilation
Bab A - Blood group antigen - binding adhesin A
Cag A - Cytotoxin - associated gene A
cag PAI - Cytotoxin-associated gene Pathogenicity Island
DAMP - Damage associated molecular patterns
DNA - Deoxyribonucleic acid
DNES - Diffuse neuroendocrine system
dup A - Duodenal ulcer - promoting gene A
ECL - Enterochromaffin-like cells
EGFR - Epidermal growth factor receptor
GGT- γ – glutamyl transpeptidase
GLO - Gastrospirillum-like organisms
GRO- α - Growth related oncogene- α
H/E - Hematoxylin/eosin
HCl – Hydrochloric acid
Helicobacter spp. - Helicobacter species
HLO - Helicobacter-like organisms
HP NAP - Helicobacter pylori neutrophil-activating protein
Htr A - High temperature requirement A
Ice A - Induced by contact with epithelia
IFN - Interferon
IgA - Immunoglobulin A
iNKT - Invariant natural killer T cells
IRF - Interferon regulatory factors
JAM - Junctional adhesion molecules

Histološke odlike mukoze želuca svinja u različitim uslovima uzgoja

LPS - Lipopolysaccharide

MAG - Multifocal atrophic gastritis

MHC - Major histocompatibility complex

MIP-1 α - Macrophage inflammatory protein 1 α

NADPH - Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NAP - Neutrophil-activating protein

NF- κ B - Nuclear factor κ B

NLR - Nucleotide-binding domain, leucine rich repeat-containing receptors

NLR - Nucleotide-binding oligomerisation domain receptor

NOD - Nucleotide-binding oligomerization domain

NOS 2 - Nitric oxide synthase 2

Oip A - Outer inflammatory protein A

OLGA - Operative link on gastritis assesement system

OMP - Outer membrane proteins

PAMP - Pathogen associated molecular patterns

PAMP (pathogen associated molecular patterns)

PGM - Porcine gastric mucin

PRR - Pathogen recognition receptors

PRR - Pattern recognition receptors)

RANTES - Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted

ROS - Reactive oxygen species

RPTP α , RPTP β - Receptor protein tyrosine phosphatases α , β

Sab A - Sialic acid - binding adhesion A

T4SS - Type IV secretion system

TGF- β - Transforming growth factor- β

TLR - Toll-like receptors

TNF- α - Tumor necrosis factor- α

Vac A - Vacuolating cytotoxin A

WHO - World Health Organization

ZO-1 - Zona occludens-1

α CgT - Cholesteryl α -glucosyltransferase

Histološke odlike mukoze želuca svinja u različitim uslovima uzgoja

SADRŽAJ

Kratak sadržaj	i
Abstract	iii
1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Anatomska i histološka građa želuca svinje	3
2.2. Morfologija bakterije <i>Helicobacter species</i>	6
2.3. Epidemiologija i transmisija	8
2.4. Lipopolisaharidi (LPS) <i>H. pylori</i>	9
2.5. Interakcije <i>H. pylori</i> sa epitelom želudačne mukoze	11
2.5.1. Adherencija	11
2.6. Adhezini <i>H. pylori</i>	13
2.6.1. Spoljašni membranski proteini (Outer membrane proteins-OMP)	13
2.6.1.1. Bab A (Blood group antigen – binding adhesin A)	14
2.6.1.2. Sab A (Sialic acid – binding adhesion A)	15
2.6.1.3. Alp A, Alp B (Adherence associated lipoproteins A i B)	16
2.6.1.4. Oip A (Outer inflammatory protein A)	17
2.6.1.5. Hop Z proteini	17
2.6.1.6. Hom B proteini	17
2.7. Glavni receptori gastričnog epitela za adhezine <i>H. pylori</i>	18
2.7.1. Lewis antigeni	18
2.7.2. Sijalinirani glukani	19
2.7.3. Uticaj mikrostrukture i viskoznosti mukusa na infekciju <i>H. pylori</i>	19
2.8. Faktori virulencije <i>H. pylori</i>	20
2.8.1. Ureaza	20
2.8.2. γ – glutamil transpeptidaza (GGT)	21
2.8.3. Htr A (High temperature requirement A)	21
2.8.4. Dup A (Duodenal ulcer – promoting gene A).....	22
2.8.5. Vac A (Vacuolating cytotoxin A)	22

2.8.6. Cag A (Cytotoxin - associated gene A)	25
2.8.7. HP NAP (<i>Helicobacter pylori</i> neutrophil-activating protein)	26
2.8.8. Holesteril α - glikozil transferaza (α CgT)	27
2.8.9. Ice A (Induced by contact with epithelia)	27
2.9. Imuni odgovor domaćina na delovanje <i>Helicobacter pylori</i>	27
2.9.1. Prepoznavanje <i>H. pylori</i> od strane ćelija urođenog imunog sistema	27
2.9.1.1. Tool-like receptori (TLR)	28
2.9.1.2. Nucleotide-binding oligomerisation domain receptor (Nod-like receptori -NLR)	29
2.9.2. Ćelije urođenog imunog sistema	29
2.9.2.1. Neutrofili	29
2.9.2.2. Makrofage i monociti	31
2.9.2.3. Dendritske ćelije	31
2.9.3. Adaptivni imuni odgovor	32
2.9.3.1. Celularni imuni odgovor	32
2.9.3.2. Humoralni imuni odgovor	33
2.10. Sidnejski sistem za klasifikaciju gastritisa	34
2.10.1. Područja za uzimanje uzoraka	36
2.10.2. Specijalna bojenja za identifikaciju <i>H. pylori</i>	37
2.10.3. Klasifikacija i ocenjivanje gastritisa prema ažuriranom Sidnejskom sistemu	38
2.10.3.1. Neatrofični gastritisi	39
2.10.3.2. Atrofični hronični gastritisi	40
2.10.3.3. Akutni gastritisi	42
2.10.3.4. Specijalni oblici gastritisa	42
2.10.3.5. Infektivni gastritisi	44
2.10.3.6. Ocenjivanje morfoloških varijabla	46
3. CILJEVI I ZADACI DISERTACIJE	52
4. MATERIJAL I METODE	54
4.1. Odabir i poreklo svinja iz intenzivnog i ekstenzivnog načina uzgoja	54
4.2. Priprema želuca za uzorkovanje i način uzimanja uzoraka	54

4.2.1. Postupak uzimanja gastričnog otiska i metod bojenja preparata Löffler metilenskim plavim	54
4.2.2. Preparacija želudačne mukoze, uzimanje uzorka iz <i>pars oesophagea</i> , <i>pars fundica</i> i <i>pars pylorica</i> želuca i bojenje hematoksilin eozinom i modifikovanom Giemsa metodom.....	56
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	59
5.1. Prevalenca bakterija <i>Helicobacter spp.</i> i bakterija HLO i GLO morfologije kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način	59
5.2. Morfološka identifikacija i semikvantitativna evaluacija bakterija <i>Helicobacter spp.</i>	60
5.3. Utvrđivanje postojanja hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način i otkrivanje udela <i>Helicobacter spp.</i> u etiologiji gastritisa	69
5.4. Reprezentativni histološki nalazi želuca svinja	94
6. DISKUSIJA	116
6.1. Prevalenca, morfološka identifikacija i semikvantitativna evaluacija bakterija <i>Helicobacter spp.</i> HLO i GLO morfologije kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način	116
6.2. Utvrđivanje postojanja hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način i otkrivanje udela <i>Helicobacter spp.</i> u etiologiji gastritisa.....	121
6.3. Histološke karakteristike mukoze želuca sa identifikovanim bakterijama GLO morfologije	123
6.4. Histološke karakteristike mukoze želuca sa identifikovanim bakterijama HLO morfologije	127
7. ZAKLJUČCI	136
8. LITERATURA	138
9. BIOGRAFSKI PODACI	184

KRATAK SADRŽAJ

Bakterije koje kolonizuju želudac (*Gastrospirillum* spp. i *Helicobacter* spp.) su izolovane kod čoveka i nekoliko animalnih vrsta, uključujući i svinje. Gastritis je rezultat prirodne ili eksperimentalno izazvane infekcije sa *H. pylori* kod čoveka i konvencionalnih prasića. Kod obe vrste (čovek i svinja), infekcija sa *H. pylori* pokreće inflamatorni odgovor organizma, međutim postoje razlike u ćelijskoj populaciji u inflamatornom infiltratu. Cilj istraživanja ove disertaciji je identifikacija bakterije *Helicobacter* spp., različite morfologije (*Helicobacter-like organisms* and *Gastrospirillum-like organisms*), kao i patohistološki pregled i evaluacija gastritisa svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način. Uzeti su uzorci mukoze *pars oesophagea*, fundusa i pilorusa. Za identifikaciju bakterije *Helicobacter* spp. korišćene su dve metode bojenja: Loeffler-methylene blue i modifikovana Giemsa. Za histološko ispitivanje, uzorci su obojeni i hematoksilin eozinom (H&E). Stepen gastritisa je određen prema Sidnejskom sistemu za klasifikaciju gastritisa. U humanoj a i u veterinarskoj patologiji, dobro je poznata činjenica o različitoj patogenosti različitih bakterija *Helicobacter* vrsta. *Helicobacter* bakterije izolovane iz želuca svinja pripadaju različitim vrstama ovog roda i međusobno se bitno razlikuju kako po patogenosti, tako i po virulentnosti. Tako na primer, *Helicobacter-like* bakterije koje su okarakterisane kao visoko patogene, mogu izazvati ulceracije ezofagealnog ili glandularnog dela želuca, gastritis ozbiljnog stepena i formiranje limfoidnih folikula. Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je stepen gastritisa veći u piloričnoj mukozi HLO-pozitivnih svinja u poređenju sa vrednostima GLO-pozitivnih svinja. Nije postojala pozitivna korelacija između infekcije bakterijama GLO morfologije i ulceracija. Za razliku od perzistentnih infekcija sa *H. pylori* kod ljudi kod kojih je teška glandularna atrofija udružena sa intestinalnom metaplazijom veoma česta, kod ispitivanih svinja iz intenzivnog i ekstenzivnog načina uzgoja nisu potvrđeni slučajevi atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije. Konvencionalne svinje mogu poslužiti kao animalni model infekcije sa *H. pylori* jer su svinje u funkcionalnom smislu monogastrične životinje po anatomskim i fiziološkim karakteristikama, vrlo slične čoveku. Takođe, patogeneza

infekcije je veoma slična kao kod čoveka. Navedene činjenice podržavaju mogućnost upotrebe ovog modela u daljem istraživanju patogeneze nastanka *Helicobacter spp.* gastritisa. Rezultati ovog istraživanja pružaju dodatni dokaz da HLO mogu biti faktor koji igra ključnu ulogu u patogenezi gastritisa kod svinja.

ABSTRACT

Bacteria that colonize the stomach (*Helicobacter spp.* and *Gastrospirillum spp.*) are isolated from humans and several animal species, including pigs. Gastritis is the result of a natural or experimental induced infection with *H. pylori* in humans and conventionally pigs. In both, humans and pigs, the infection with *H. pylori* elicited inflammatory response, but there are differences between populations of inflammatory cells. The aims of this dissertation are to identify *spp.* with two different morphology (*Helicobacter-like organisms* and *Gastrospirillum-like organisms*), as well as histopathological examination and evaluation of gastritis score of gastric mucosa of pigs in intensive and extensive production. Biopsy samples were taken from the pars oesophagea, fundic and pyloric mucosa. For identification of *Helicobacter* species morphology we used two stain methods: Loeffler-methylene blue and modified Giemsa. All tissue sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E) for histopathological evaluation. The severity of gastritis was scored to the Sydney System for the classification of gastritis. In human as well as in veterinary pathology, the fact of the different pathogenicity of various *Helicobacter* species is well known. The *Helicobacter spp.* isolated from stomach mucosa of pigs which belong to different genus, differ significantly in both, pathogenicity and virulence. *Helicobacter pylori-like* bacteria characterised as high pathogenic, has been associated with ulceration of the oesophageal or glandular portion of the stomach, severe gastritis and formation of lymphoid follicles. On the contrast, infection with *Helicobacter heilmannii*, which has been shown to have low pathogenicity was accompanied by only mild gastritis and no ulceration. The results of current study suggested that the average gastritis score was higher in HLO-positive pyloric mucosa, compared with the GLO-positive pyloric mucosa. There was significance between HLO-positive and HLO-negative pyloric mucosa in both, intensive and extensive production. There was no correlation between GLO-positive mucosa and ulceration. In contrast to persistent *H. pylori* infection in humans in which severe glandular atrophy associated with intestinal metaplasia is very common, in examined pigs from intensive and extensive breeding,

no samples exhibited histological features characteristic for atrophic gastritis and intestinal metaplasia have been confirmed in pigs of both production systems. The conventional piglets as an animal model of the human *H. pylori* infection offers advantages of a functional monogastric animal with gastric anatomic and physiologic characteristics similar to those of humans. Moreover, the infection and pathogenesis is similar to that in humans. These facts support the usefulness of this model in further research on the pathogenic mechanisms of *Helicobacter spp.* associated gastritis. Our findings provide further evidence that HLO can be one of the factors that playing a crucial role in the pathogenesis of gastritis in pigs.

1. UVOD

„Ovo je priča o otkrivanju Helicobacter-a. Mnogo puta sam se pitao: Da li sam ja ovo otkriće ukrao? Da li sam ga sasvim slučajno pronašao? Radi li se o briljantnom istraživačkom radu? Ili je to jednostavno sreća? Moj odgovor na većinu ovih pitanja je NE. Očigledno, kao i u svakom novom otkriću, tako i u ovom, postoji izvesni elemenat sreće. Mislim da je najadekvatniji termin SREĆNA OKOLNOST. Bio sam na pravom mestu, u pravo vreme i imao interes i sposobnost da uradim nešto više nego da ga mimođem”

J. Robin Warren

Nobelova nagrada za 2005. godinu dodeljena je australijskim istraživačima Maršalu i Vorenu za otkriće bakterije zakrivljenog oblika (danas poznata pod imenom *Helicobacter pylori*) koja je bila glavni uzročnik hroničnog gastritisa i gastričnog ulkusa kod ljudi (Marshall B.J, Warren J.R, 1984). Iako je striktno humani patogen čiji prirodni domaćin je čovek, *H. pylori* ili organizmi slični njemu su izolovani iz nekoliko životinjskih vrsta uključujući i svinje (Mendes E.N, i sar, 1990; Queiroz D.M, i sar., 1990; Barbosa A.J i sar., 1995). Pomoću mikrobioloških metoda, Krakowka i sar. (2005) su iz želuca svinja uzgojenih konvencionalnim putem izolovali 2 bakterije, morfološki veoma slične sa *Helicobacter pylori*, ali specifične samo za svinje. Queiroz D.M. i sar. (1990) su po prvi put identifikovali spiralne bakterije u želucu svinja. Glavni predstavnik spiralnih bakterija iz roda *Helicobacter* koji kolonizira želudac svinja je *H. suis* (Hellemans A, I sar., 2007). Sumnju da *H. suis* ima zoonotski potencijal i da postoji mogućnost prenosa sa svinje na čoveka, potvrđuju Joosten M. i sar. (2013) nalazima spiralne bakterije u želucu veterinara koji je bio u stalnom kontaktu sa svinjama.

Gastritis je rezultat prirodne infekcije sa *H. pylori* kod čoveka (Warren J.D, Marshall B.J, 1983) ali i prirodne infekcije konvencionalnih prasića (Krakowka S, I sar., 2005). Kod obe navedene vrste koje su podložne infekciji sa *H. pylori* (čovek i svinje), a prisustvo *H. pylori* je u korelaciji sa inflamatornim odgovorom. Kako čovek, tako i svinje koje imaju perzistentnu infekciju sa *H. pylori* razvijaju ozbiljan gastritis, međutim karakter inflamacije se bitno razlikuje

kod ovih vrsta. U humanoj a i u veterinarskoj patologiji, dobro je poznata činjenica o različitoj patogenosti različitih bakterija *Helicobacter* vrste (Peyrol S, I sar., 1998). *Helicobacter-like* bakterije su okarakterisane kao visoko patogene i dovode se u vezu sa ozbiljnim stepenom gastritisa i ulceracija ezofagealnog ili glandularnog dela želuca, dok se *Helicobacter heilmannii*, za koga je dokazano da ima nisku patogenost povezuje jedino sa gastritisima blažeg stepena i bez evidentiranih ulceracija (Krakowka S, I sar., 2005a).

Sidnejski sistem za klasifikaciju i ocenjivanje gastritisa je kreiran od grupe stručnjaka na devetom Svetskom kongresu gastroenterologa u Sidneju, u Australiji, 1990. godine, a publikovan 1991. godine u časopisu *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. U njemu se naglašava značaj kombinovanja topografskih, morfoloških i etioloških informacija, koje bi pomogle u postavljanju reproducibilne i klinički korisne dijagnoze (Sipponen P, Price A.B, 2011).

Postoji veoma mali i ograničen broj informacija o postojanju bakterijskog gastritisa kod svinja. Otkriće *H. pylori* i prihvatanje njegove uloge u patofiziologiji želuca, predstavlja fundamentalnu promenu u razumevanju gastrointestinalnih bolesti. Konvencionalni prasići kao animalni model ispitivanja humane *H. pylori* infekcije, pružaju mogućnost upotrebe zbog anatomskih i fizioloških karakteristika monogastričnog želuca svinja koji je sličan želucu čoveka (Krakowka S, i sar., 1990). Glicerolipid, koji se smatra specifičnim receptorom za *H. pylori* u mukozi želuca, detektovan je kod obe vrste, čoveka i svinje (Lingwood C.A, i sar., 1989). Patogeneza infekcije sa *H. pylori* kod čoveka i svinje je veoma slična (Engstrand L, et al., 1990).

Ciljevi istraživanja ove disertaciji su identifikacija bakterija različite morfologije: HLO (*Helicobacter-like organisms*) i GLO (*Gastrospirillum-like organisms*) koje pripadaju *Helicobacter* vrstama, ocenjivanje stepena hroničnih gastritisa primenom Sidnejskog sistema za klasifikaciju gastritisa i komparacija histoloških promena želucačne mukoze HLO-pozitivnih i GLO-pozitivnih svinja. Ispitivanje histoloških promena mukoze želuca svinja iz intenzivnog i ekstenzivnog uzgoja daće korisne informacije koje mogu unaprediti ishranu, negu i zdravstveno stanje svinja. Kako je jasno naglašena potreba za upotrebu pogodnih životinja za proučavanje patogeneze infekcije sa *Helicobacter spp.*, uočavanje histoloških odlika i ocenjivanje parametara kojima bi se utvrdio stepen inflamacije i karakter inflamatornog infiltrata kod svinja, mogu biti koristan animalni model.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Anatomska i histološka građa želuca svinje

Želudac (*ventriculus s. gaster*) je prostran, šuplji organ koji spaja jednjak i tanko crevo i predstavlja najširi deo alimentarnog trakta. Kod svinja se želudac sastoji samo iz jedne šupljine tzv. jednokomorni želudac, vrećastog je oblika i položen je popreko u trbušnoj duplji. Kutana i žlezdana sluznica u želucu svinje, smenjuju se unutar ovog organa. Deo želuca koji je obložen kutanom sluznicom i koji se nalazi oko ušća jednjaka naziva se jednjački ili predželudačni deo – *pars oesophagica* ili *proventricularis*. Drugi deo želuca koji je obložen žlezdanom sluzokožom naziva se žlezdani ili pravi želudac – *pars glandularis*. Dorzalni rub je konkavan i označava se kao mala krivina – *curvatura ventriculi minor*, a prostire se između jednjaka i dvanaestopalačnog creva. Ventralni rub želuca odnosno velika krivina je konveksna, veća i polukružnog oblika a nazvana je *curvatura ventriculi major* (Šijački N, i sar., 1985).

U želucu, kao i u celom digestivnom kanalu, histološki se razlikuju četiri sloja: sluznica (*tunica mucosa*) u čiji sastav ulaze *lamina epithelialis*, *lamina propria mucosae* i *lamina muscularis mucosae*; podsluznica (*tunica submucosa*); mišićni sloj (*tunica muscularis*) i seroza (*tunica serosa*). Na osnovu tipa prisutnih žlezda, žlezdani deo sluznice se histološki deli na tri regiona: kardija, fundus i pilorus (Semuelson A. D., 2007).

1. Sluznica (*Tunica mucosa*)

Epitel (*lamina epithelialis*) - Početni ezofagealni deo (*pars oesophagica*) linijom velike krivine zauzima 3.13 cm, odnosno u zavisnosti od veličine želuca od 2.4 do 5.25 cm (Aleksić Z, i sar., 1999). U ovoj regiji nema žlezdanih elemenata, dok se na površini nalazi pločasto-slojeviti epitel.

Počev od kardije pa sve do završetka želuca, unutrašnja površina je prekrivena jednim redom cilindričnih ili prizmatičnih epitelnih ćelija koje oblažu želudačne jamice (*foveolae gastricae*). Pokrovne ćelije sluznice želuca su veoma labilna ćelijska populacija. Dokazano je da svakih 3 – 9 dana sledi zamena celokupnog površnog sloja, a regeneracija se obezbeđuje iz nezrelih ćelija

smeštenih u donjem delu kripe i u vratu fundusnih žlezda (Willems G, i sar., 1971; Knežević M, i sar., 1996).

Subepitelno vezivo (*lamina propria mucosae*) je rastresito vezivno tkivo zastupljeno u veoma maloj količini i ograničeno je na prostor koji okružuje gastrične foveole i gastrične žlezde. Stroma se sastoji od retikularnih vlakana pridruženih fibroblastima, ali i od ćelija imunog sistema: limfocita, eozinofila, granulocita, plazmocita i dr. U fiziološkim uslovima, intraepitelijalni limfociti nisu prisutni u sluznici želuca. Prilikom postojanja inflamacije uočljivi su i neutrofili (Ross H.M, Pawlina W, 2006). U normalnoj gastričnoj mukozi mogu biti prisutni mali limfoidni agregati, locirani na bazi *lamina propria* u neposrednoj blizini *lamina muscularis mucosae*. Međutim, limfoidni agregati sa germinativnim centrima su izuzetno redak nalaz gastrične mukoze odraslih svinja ili ljudi, negativnih na *H. pylori* (Jacobson B.C, i sar., 2009). U zavisnosti od regiona želuca, *lamina propria mucosae* sadrži sledeće žlezde: *glandulae cardiacae*, *glandulae gastricae propriae* i *glandulae pyloricae*.

Kardijalne gastrične žlezde (*glandulae cardiacae*) se sastoje pretežno od mukoidnih ćelija kubičnog oblika, luče mukozan, sluzni sekret, koji se pred ulazak u želudačnu jamicu nakuplja u vratu žlezde. Sluz koja prekriva želudačnu sluzokožu je proizvod žlezdanih aktivnosti epitela kardijačnih i pilorusnih žlezda.

Fundusni žlezdani region je generalno razvijeniji od kardijalnog žlezdanog regiona i kod svinje obuhvata oko četvrtine ukupne površine želudačne sluznice. Žlezde ovog regiona nazvane prave želudačne žlezde (*glandulae gastricae propriae*) su tubulozne ili razgranate i dosežu sve do *lamina muscularis mucosae*. Raspoređene su paralelno, gusto su zbijene i ulivaju se u želudačne jamice. U svakoj žlezdi razlikuje se: dno, telo, vrat i *isthmus*. U njima se nalaze četiri tipa ćelija: vratne (mukozne), parijetalne (acidogene), glavne (pepsinogene) i endokrine ćelije (Semuelson A.D, 2007). Vratne (mukozne) ćelije su visokoprizmatičnog oblika a smeštene su u predelu vrata žlezde. Jedra su im bazalno postavljena, a u apikalnom delu ćelija nalazi se sluz (Šijački N, i sar., 1985). Mukozne ćelije želudačnih žlezda izlučuju mukoproteine koji u fiziološkoj koncentraciji obrazuju mrežu što predstavlja viskozno elastični gel koji oblaže celu sluznicu želuca i funkcioniše kao barijera za mnoge štetne agense (Allen A, i sar., 1984; Turner N.C, i sar., 1985). Parijetalne (acidogene – hlorogene) ćelije se nalaze u vratnom delu žlezda i u predelu tela žlezde između glavnih ćelija. Krupnije su od glavnih ćelija, piramidalnog su oblika, jedro je centralno položeno a citoplazma je ispunjena acidofilnim granulama. Prema navodima

Petrosjan F.R. (1975) parijetalne ćelije se kod svinja ne nalaze pojedinačno, već u grupama, tesno priljubljene jedna uz drugu, tako da ponekad ispunjavaju lumen tubula. Obzirom da ove ćelije nemaju sposobnost deljenja, njihova regeneracija osigurana je iz nezrelih ćelija u vratu žlezde (Willems G, et al., 1972). Uloga parijetalnih ćelija sastoji se u izlučivanju HCl (hlorovodonične kiseline). Glavne (pepsinogene) ćelije su najbrojnije i nalaze se uglavnom u predelu dna i tela žlezde. Njihov piramidalni odnosno kubični oblik je veoma sličan sa oblikom parijetalnih ćelija, s tim da su glavne ćelije mnogo manje od parijetalnih. Jedro im je okruglasto i leži bazalno, dok se u citoplazmi nalaze sekretorne granule koje sadrže proenzim pepsinogen. Njihova funkcija se sastoji u sintezi i sekreciji pepsinogena (Keneth J.H, 1975). Putem egzocitoze, pepsinogen prelazi u lumen žlezda i pod uticajem izlučene HCl, pretvara se u aktivan pepsin, koji razlaže belančevine. Endokrine ćelije su najređi ćelijski tip u pravim želudačnim žlezdama. One su pojedinačno diseminovane i leže neposredno na bazalnoj membrani epitela (Kvetnoy I.M, i sar., 1997). Endokrine ćelije su udružene u malim grupama, razbacanim u epitel želudačne sluznice i deo su takozvanog difuznog neuroendokrinog sistema (DNES - diffuse neuroendocrine system). Neke od njih su uključene u usvajanje i dekarboksilaciju aminoprekursora, zbog čega su poznate i kao APUD (APUD - amine precursor uptake and decarboxilation) (Samuelson A.D, 2007).

Antralne - pilorične žlezde su locirane u pilorični antrum (deo želuca smešten između *pars fundica* i *pars pylorica*). Ove vijugaste tubularne žlezde su razgranate, obložene sekretornim ćelijama, slične po izgledu površinskim ćelijama koje luče sluz.

Mišićni sloj sluzokože (*lamina muscularis mucosae*) sastoji se od dva relativno tanka sloja glatkih mišićnih ćelija koje se pružaju u dva pravca: unutrašnji (kružni) i spoljašnji (uzdužni). U predelu kardije preovlađuju uzdužna vlakna, a u predelu želudačnog fundusa isti su kružno orijentisani. Između mišićnih vlakana, smeštena su elastična vlakna (Šijački N. i sar., 1985). Tanke niti glatkih mišićnih ćelija protežu se od unutrašnjeg sloja *lamina muscularis mucosae* prema površini *lamina propria*. Smatra se da glatke mišićne ćelije u *lamina propria* potpomažu izlučivanje sekreta iz želudačnih žlezda (Ross H.M, Pawlina W, 2006).

2. Podsluzokoža (*Tunica submucosa*) je građena od rastresitog vezivnog tkiva, a elastična vlakna su gušće grupisana u graničnom predelu sa sluzokožom i mišićnim slojem. U ovom sloju pored krvnih sudova, nalaze se i nervna vlakna i ganglijske ćelije koje formiraju submukozni

(Meissner-ov) pleksus, odgovoran za inervaciju submukoznih krvnih sudova i glatkih mišića *lamina muscularis mucosae* (Junqueira L, Carneiro J, 2005).

3. Mišićni sloj (*Tunica muscularis*) je sačinjena od dva do tri sloja glatkih mišićnih ćelija, grupisanih u listove nejednake veličine i raširenosti. Kružni sloj (*stratum circulare*) oblaže žlezdani deo želuca, zadebljan je u predelu pilorusa i čini *sphincter pylori*. Kosi sloj (*fibrae obliquae*) oblaže *pars oesophagica* želuca i raspoređen je u dva sloja. Spoljašnji uzdužni sloj (*stratum longitudinale*) je vrlo tanak, izgrađen iz uzdužno poređanih vlakana, koja su najbrojnija u predelu krivina (Šijački N. i sar., 1985). Između mišićnih slojeva prisutne su ganglijske ćelije i snopovi nemijeliniziranih nervnih vlakana, koji zajedno čine mijenterični (Auerbach-ov) pleksus koji obezbeđuje inervaciju mišićnih slojeva (Ross H.M, Pawlina W, 2006).

4. Serozni omotač želuca (*Tunica serosa*) predstavlja produženje visceralnog lista peritoneuma a sastoji se od vezivnog tkiva obloženog mezotelom. Duplikatura seroze povezuje želudac sa dijafragmom (*lig. gastrophrenicum*), duodenumom (*lig. duodenale*), slezinom (*lig. gastrolienale*) i obrazuje parijetalni list *omentum majus*-a (Šijački N. i sar., 1985).

2.2. Morfologija bakterija *Helicobacter spp.*

Bakterije iz roda *Helicobacter* pripadaju carstvu Bacteria, koleno Proteobacteria, klasa Epsilon proteobacteria, red *Campylobacteriales*, familija *Helicobacteriaceae*, rod *Helicobacter* (Garrity G.M, i sar., 2005). Sve bakterije *Helicobacter spp.* su gram – negativne, mikroaerofilne, imaju višestruke polarne flagele i pokazuju ureaznu, katalaznu i oksidaznu aktivnost (Lee A, O'Rourke J, 1993). Dve vrste *Helicobacter spp.* izolovane iz želuca čoveka su morfološki različite jedna od druge. Marshall B.J. i Warren J.R. zapazili su da je bakterija zaobljenog oblika (danas poznata pod imenom *Helicobacter pylori*) bila glavni uzročnik hroničnog gastritisa i gastričnog ulkusa kod čoveka (Marshall B.J, Warren J.R, 1984). Iako je striktno humani patogen čiji je prirodni domaćin čovek, *H. pylori* ili organizmi slični njemu su izolovani iz nekoliko životinjskih vrsta uključujući i svinje (Mendes E.N, i sar., 1990; Queiroz D.M, i sar., 1990; Barbosa A.J, i sar., 1995). Krakowka S. i sar. (2005) su iz želuca svinja uzgojenih konvencionalnim putem (negnotobiotski), mikrobiološkim metodama izolovali 2 izolata ureaza i katalaza pozitivne, mikroaerofilne, male, zakrivljene bakterije. Obe bakterije su pripadale rodu *Helicobacter* i bile su specifične samo za svinje. Prvi izolat (2662) je strukturno i imunološki

veoma sličan sa *H. pylori* koji je izolovan iz čoveka i izaziva prominentnu inflamaciju želuca, a drugi izolat (1268) koji je morfološki veoma sličan prvom, izaziva samo minimalna inflamatorna oštećenja želuca. Oba izolata su morfološki veoma slična sa *H. pylori* izolovanog iz želuca čoveka, ali morfološki različita od spiralnog *H. heilmannii*.

Helicobacter pylori (ranije nazvan *Campylobacter pyloridis*) je gram negativna, mikroaerofilna bakterija, blago zakrivljena ili u obliku slova „S”. Kultivacijom na čvrstim podlogama uglavnom dobija štapičast oblik (Goodwin C.S, Armstrong J.A, 1990). Posle duže kultivacije na čvrstim podlogama ili u tečnom medijumu, dominiraju pretežno kokoidni oblici (Nilius M, i sar., 1993). Ova bakterija je dužine od 2,5 do 5 µm i širine od 0,5 do 1 µm i poseduje od 4 do 6 unipolarnih obloženih flagela (Goodwin C.S, Armstrong J.A, 1990) esencijalnih za pokretljivost bakterije. Svaka flagela je duga oko 30 µm, debela 2,5 µm (Goodwin C.S, Armstrong J.A, 1990; Geis G, i sar., 1993) i ima terminalni bulbus koji predstavlja produžetak flagelnog omotača (Goodwin C.S, i sar., 1987). Spoljašnja membrana *H. pylori* je prekrivena strukturama nalik glikokaliks, a u uzorcima gastričnih bioptata površina bakterije pomoću nitastih produžetaka glikokaliksa može biti povezana za gastrični epitel (Goodwin C.S., i sar., 1987). Ustanovilo se da su sposobnost kretanja i spiralni oblik naročito važni za preživljavanje bakterije. Eaton K.A. i sar. (1992) navode da *H. pylori* sa mutacijama u flagelama nije imao sposobnost da kolonizuje gastričnu mukozu gnotobiotskih prasića. Istraživanja sprovedena od strane Otteman K.M. i Lowenthal A.C. (2002) su dokazala da i mutanti *H. pylori* koji imaju intaktnu, ali nepokretnu flagelu, takođe nemaju sposobnost kolonizacije želuca.

Helicobacter heilmannii (ranije nazvan *Gastrospirillum hominis*) je spiralno izvijena bakterija, sa zavojima čiji broj varira od 4 do 6. Ova vrsta je dužine 7-10 µm, što je čini dva puta većom od *H. pylori* (Yeomans N.D, Kolt S.D, 1996) i generalno ne može biti kultivisana na veštačkim podlogama (Utriainen M, Hanninen H, 1998; De Groote D, i sar., 2000; Roosendaal R, i sar., 2000). *H. heilmannii* je ekstremno acidorezistentan, kolonizuje pretežno gastrične foveole, egzistira slobodno i ne atherira za površinski epitel želuca. Iako se *H. heilmanni* može naći bilo gde u glandularnom delu želuca, ova bakterija ima poseban afinitet prema fundusu i parijetalnim ćelijama koje proizvode HCl (Queiroz D.M, i sar., 1990; Krakowka S, i sar., 1998). Dokazano je da su „*Gastrospirillum – like*” organizmi (GLO) u želucu čoveka prisutni

sporadično (Heilmann K.L, Borchard F, 1991). Prisustvo bakterija koje imaju spiralan oblik u želucu životinja prvi put su opisali Rappin J. (1881) i Bizzozero G. (1893).

H. heilmannii nije ograničen samo na čoveka, već prirodno inficira široki spektar životinja kao što su: mačke, psi, svinje i primati dovodeći do blagih ili umerenih gastritisa (Eaton K.A, I sar., 1996; Queiroz D.M, i sar., 1996). Na osnovu filogenetskih ispitivanja, ustanovilo se da postoje najmanje dva različita tipa ove spiralne bakterije, nazvane „*Helicobacter heilmannii*” tip 1 i tip 2 (Solnick J.V, i sar., 1993), oba dokazano prisutna u želucu svinja (Cantet F, et al., 1999). *Helicobacter heilmannii* tip 1 i „*Candidatus H. suis*”, pokazuju 99,5% homologiju 16SrDNA sekvence, što sugerise da oba pripadaju istoj vrsti (Mendes E.N, i sar., 1994). *Helicobacter heilmannii* tip 1 je sporadično patogen za čoveka (Krakowka S, i sar., 1998), ali slična spiralna bakterija koja pripada *Helicobacter spp.* veoma često egzistira u želucu klaničnih svinja (Barbosa A.J, i sar., 1995; Melnichouk S.L, 1999; Roosendaal R, i sar., 2000). Inflammatory oštećenja koja izaziva ova bakterija histološki su nespecifična, a sastoje se od infiltrata limfocita i plazma ćelija, tipično za antralni region želuca (Krakowka S. i sar., 1998; Melnichouk S.L, 1999). Eksperimentom izvedenim na grupi gnotobiotskih prasića od strane Krakowka S. i sar. (1998), nije dokazan ulcerogeni potencijal *H. heilmannii* za svinje. Ova bakterija je uobičajeni stanovnik želuca svinje (Queiroz D.M, i sar., 1990; Barbosa A.J, i sar., 1995; Melnichouk S.L, 1999; Roosendaal R, i sar., 2000), a preko 50% svinja koje nemaju ulceroznih lezija su kolonizovane ovom bakterijom. *Helicobacter heilmannii* tip 2 predstavlja grupu vrsta koje kolonizuju želudac psa i mačke u koju pripadaju: *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. cynogastricus*, *H. baculiformis*, i *H. heilmannii sp. nov.* (Han S.R i sar., 2000).

U rodu *Helicobacter* do danas je poznato 18 validno imenovanih vrsta (Mendes E.N, i sar., 1996; Jalava K, i sar., 1997), koje zajedno sa rodovima *Wolinella*, *Campylobacter* i *Arcobacter* sačinjavaju klasu epsilon Proteobacteria, takođe poznatu i pod imenom rRNA superfamilija VI (Vandamme P, i sar., 1991).

2.3. Epidemiologija i transmisija

Smatra se da je oko 60% svetske populacije inficirano sa *H. pylori* (Nomura M.A i sar., 1991; Marshall B.J, 1994). Iako je ova infekcija rasprostranjena širom sveta, stopa prevalencije je manja u zapadnoj Evropi, gde je inficirano oko 30% stanovništva, dok je u ostalim delovima

sveta inficirano više od 90% stanovništva (Malaty H.M, i sar. 1992; Marshall B.J, 1994). Ova razlika u prevalenciji infekcije, pripisuje se stopi sticanja bakterije *H. pylori* u detinjstvu (Mitchell H.M., i sar., 1992). Nekoliko studija su dokazale povezanost između socioekonomskog statusa i visoke stope infekcije sa *H. pylori* (Malaty H.M, Graham D.Y, 1994; Woodward M, I sar., 2000). Uprkos svetskoj rasprostranjenosti infekcije sa *H. pylori*, putevi transmisije nisu u potpunosti razjašnjeni. Najčešći način transmisije obavlja se gastro–oralnim, oralno–oralnim ili fekalno–oralnim putem, (Thomas J.E, i sar., 1992; Luzzo F, I sar., 2000). Malo je poznato o mogućnostima vertikalne transmisije *H. pylori* infekcije od majke na plod tokom graviditeta. Lee J.U. i sar. (2006) su ispitali ovu mogućnost na mišjem modelu i ustanovili da transplacentarni prenos infekcije tokom trudnoće nije moguć te da se infekcija kod mladih jedinki stiče u periodu dojenja, putem kontaminirane pljuvačke ili fekalno-oralno zbog kohabitacije.

Kad je reč o zoonotskoj transmisiji infekcije, ustanovljeno je nekoliko vrsta vektora: krave (Fujimura S, i sar., 2002), ovce (Dore M.P, i sar., 2001), kućni ljubimci (Boomkens S.Y, i sar., 2004), kao i insekti kao što su bubašvabe (Imamura S, i sar., 2003) i muve (Osato M.S, i sar., 1998). Smatra se da kontakt sa svinjama povećava rizik od infekcije sa *H. heilmannii* (Stolke M, i sar., 1994; Meining A, i sar., 1998).

2.4. Lipopolisaharidi (LPS) *H. pylori*

Bakterijski lipopolisaharidi su termostabilni, neproteinski, endotoksini koji su komponenta ćelijskog zida gram-negativnih bakterija, a sastoje se od konzervisanih i visoko varijabilnih regiona (Rietschel E.T, i sar., 1996). Konzervisani regioni su esencijalni za ćelijsko preživljavanje, dok varijabilni regioni nisu bitni za egzistenciju bakterije, ali su ključni za adaptaciju bakterije na okolinu domaćina.

Generalno, struktura lipopolisaharida različitih vrsta i serotipova gram-negativnih bakterija je slična. Amfifilična molekula se sastoji od 2 dela: hidrofilni polisaharid i lipid A koji gradi hidrofobnu lipidnu komponentu. Polisaharidna komponenta sadrži jezgro i specifični O-lanac, koji je unikatan za svaki endotoksin. O-lanac lipopolisaharida *H. pylori* pokazuje strukturne sličnosti sa humanim Lewis-like antigenima: Le^x, Le^y, Le^a i Le^b eksprimiranim na površini gastričnih epitelnih ćelija i eritrocita (Monteiro M.A, i sar., 2000; Marionneau S, i sar., 2001). Ovaj fenomen nazvan „molekularna mimikrija” najverovatnije čini ove patogene manje

senzitivnim na prepoznavanje od strane imunih ćelija domaćina (Appelmelk B.J, i sar., 1997). Pretpostavlja se da Lewis-like antigeni lipopolisaharida *H. pylori* igraju ključnu ulogu u adherenciji bakterije na gastrične epitelne ćelije preko Le^x. Nekoliko studija podržava činjenicu da su lipopolisaharidi faktori adherencije *H. pylori*. Studija koja je za inhibiciju adherencije *H. pylori* za gastrične epitelne ćelije koristila monoklonalna antitela, dokazala je da isti targetiraju lipopolisaharide i vezuju se verovatno na Le^x fragmenat O-antigena (Osaki T. i sar., 1998). Fowler M. i sar. (2006) ističu da je receptor prepoznat od strane bočnog lanca O-antigena nosilac β-galaktozid vezujućeg lektina, nazvanog galektin 3. Ova studija takođe dokazuje da je ekspresija galektina 3 stimulirana od strane gastričnih epitelnih ćelija i praćena adherencijom *H. pylori*, što dalje navodi da i prilikom kolonizacije galektin igra ulogu u odgovoru domaćina na infekciju. Podaci iz ostalih studija pokazuju da Lewis antigeni verovatno imaju samo ograničenu ulogu za bakterijsku adherenciju, za razliku od veoma snažne adherentne sposobnosti adhezina *H. pylori* (Odenbreit S, i sar., 2002; Mahdavi J, i sar., 2003). Lipid A je poznat i kao bioaktivni centar lipopolisaharida, odgovoran za endotoksine (Rietschel E.T, et al., 1996), a se njegov biokapacitet ogleda u indukciji citokina. Dokazano je da ispoljava male endotoksične i inflamatorne aktivnosti, u poređenju sa većinom enteritičnih bakterija (Hildebrandt E, McGee J.D, 2009). Uprkos činjenici da su lipopolisaharidi toksični za domaćina, lipopolisaharidi *H. pylori* nisu dovoljni za aktivaciju imunološkog odgovora domaćina (Muotiala A, i sar., 1992). Lipid A lipopolisaharida *H. pylori* ima malu sposobnost da indukuje produkciju citokina, azotnog oksida i prostaglandina E2, pokazuje slab potencijal za aktiviranje NK ćelija (natural killer cells) i ekspresiju E-selektina i bitno ne utiče na aktivnost supresornih T-limfocita (Perez-Perez G.I, i sar., 1995; Giuliani G, i sar., 1996).

Oslobađanje lipopolisaharida *H. pylori* na mestu infekcije, može odigrati važnu ulogu u indukciji lokalnog i sistemskog inflamatornog odgovora. Ovakva indukcija može biti rezultat direktnih interakcija između lipopolisaharida i ćelije ili međućelijskih interakcija posredovanih od strane citokina. Promene koje se dešavaju u kolonizovanom gastričnom epitelu, dovode do penetracije bakterijskih antigena kroz bazalnu membranu, gde se vezuju za ekstracelularni matriks i posle prepoznavanja sa strane PRR (pathogen recognition receptors) ulaze u interakciju sa imunim ćelijama infiltriranim u *lamina propria*, indukujući produkciju citokina. Solubilni antigeni *H. pylori* mogu ući u cirkulaciju i indukovati sistemske efekte (Dubreuil J.D, i sar., 2002; Wessler S, Backert S, 2008).

Bakterijski lipopolisaharidi su u stvari molekularni obrasci patogena, (PAMPs - pathogen associated molecular patterns) ili takozvani „alarmini” koji omogućuju prepoznavanje bakterije i pokreću urođeni imuni odgovor kod domaćina (Janeway C.A, Medzhitov R, 2002). Lipopolisaharidi kao i ostali PAMPs su prepoznate od strane receptora makrofaga i dendritskih ćelija, koje čine prvu liniju imunološke odbrane. TLR (Toll-like receptors) i NLR (nucleotide-binding domain, leucine rich repeat-containing receptors) pokazuju veoma visoki stepen specifičnosti za PAMP. Rezultat ovakvog prepoznavanja je produkcija proinflamatornih citokina i maturacija dendritskih ćelija, što rezultira aktivacijom specifičnog imunog odgovora (Takeuchi O, Akira S, 2010). Lipopolisaharidi *H. pylori* mogu imati različite efekte na fagocite. U studijama *in vitro*, lipopolisaharidi *H. pylori* su umanjili ingestiju *H. pylori* u humanim polimorfonuklearnim leukocitima (Grebowska A, i sar., 2008). Vezivanje *H. pylori* za laminin, posredovano je lipopolisaharidima, može uticati na efikasnost fagocitoze bakterije (Walz A, i sar., 2005). Drugi antifagocitni mehanizam lipopolisaharida *H. pylori* može biti povezan sa apoptotičkim promenama u fagocitima pokrenutim od lipopolisaharida (Grebowska A, i sar., 2008). Postoje saznanja koja ukazuju na učešće kaspaze-3 u inflamatornom odgovoru gastrične mukoze na delovanje lipopolisaharida *H. pylori* kao i NOS 2 (nitric oxide synthase 2) u amplifikaciji signalnih kaskada prilikom ćelijske smrti (Slomiany B.L, i sar., 1999).

2.5. Interakcije *H. pylori* sa epitelom želudačne mukoze

2.5.1. Adherencija

Oko 20% ukupnog broja *H. pylori* u želucu adherira za površinu epitelnih ćelija želudačne mukoze (Nowak J.A., i sar., 1997). Studije koje se bave elektronskom mikroskopijom gastričnih uzoraka, dokazale su da *H. pylori* pokazuje specifični tropizam prema međućelijskim vezama. U određenim slučajevima bakterija može biti locirana duboko u intracelularnom prostoru, što je praćeno citoskeletnim promenama i promenama na mestu adherencije i internalizacijom unutar epitelnih ćelija (Camorlinga-Ponce M, i sar., 2004; Necchi V, i sar., 2007). Razlozi adheriranja *H. pylori* za površinu epitela želudačne mukoze, objašnjavaju se različitim hipotezama.

1. Adherencija sa ciljem oštećenja ćelije i izazivanja inflamacije - Prvom hipotezom se pretpostavlja da adheriranjem na epitel, *H. pylori* izaziva njegovo oštećenje, indukuje inflamaciju

i produkuje toksine. Tačnije, dokazano je da se Sab A (sialic acid – binding adhesion A) vezuje za inflamiranu sluznicu, aktivirajući neutrofile preko mimikrije selektina (Petersson C, i sar., 2006). Eksperimentalno je evidentirana povezanost bakterijske adherencije sa samim oboljenjem. Kada su transgenetski miševi sa eksprimiranim Lewis^b antigenom, bili inficirani sa *H. pylori*, pokazali su veći stepen bakterijskog vezivanja, ozbiljniji hronični gastritis i propadanje parijetalnih ćelija (Guruge J.L, i sar., 1998). Produkcija glavnih faktora virulencije *H. pylori*, Cag A (cytotoxin-associated gene A) i Vac A (vacuolating cytotoxin A) je tesno povezana sa adhezijom, što sugerise da je glavni cilj adhezije lučenje toksina.

2. Adherencija sa ciljem izbegavanja mehaničkog klirensa i promocijom invazije i perzistencije - Druga hipoteza navodi da je adherencija involvirana u izbegavanje mehaničkog klirensa. Sredina (ambijent) želuca je dinamična i poseduje nekoliko mehanizama klirensa: konstantna egzocitoza mukopolisaharida, sekrecija želučanih sokova, peristaltički pokreti zida želuca. U uslovima slobodnog protoka, patogene bakterije i komensali koji kolonizuju površinu želučane sluznice su razvili brojne mehanizme za adheziju (kao što su pili ili fimbrije) kojima izbegavaju odstranjenje sa mukoze (Mulvey M.A, i sar., 1998). *H. pylori* je sposoban da pronađe svoje uporište, preko adhezije za površinu epitelnih ćelija. Drugi način izbegavanja klirensa je invazija epitelnih ćelija sluzokože, kojom se omogućava mehaničko vezivanje i zaštita bakterije od ekstracelularnog okruženja. Primera radi, određene bakterije, kao što je uropatogena *Escherichia coli*, koja je veliki ekstracelularni organizam, nema sposobnost adherencije za epitelne ćelije mokraćnog mehura, ali napada epitelne ćelije i na taj način uspostavlja vlastitu perzistenciju i izbegava mehanički klirens (Martinez J.J, i sar., 2000). Slično tome, *H. pylori* koji ima male proporcije, invadira epitelnu barijeru, bilo između ili unutar ćelije (Necchi V, i sar., 2007). Eksperimenti sa ćelijskim kulturama su dokazali da *H. pylori* postaje uočljiv unutar ćelija kroz nekoliko dana, čak i kad je ekstracelularno prisutan antibiotik, a u stanju je da naseli i ekstracelularnu okolinu (Amieva M.R, i sar., 2002). Iako trenutno ne postoje dokazi da se *H. pylori* može replikovati intracelularno i da nisu evidentirani specifični faktori neophodni za ćelijsku deobu, klinički dokazi upućuju da se infekcija sa *H. pylori* ne može eradicirati aplikacijom antibiotika koji imaju slabu intracelularnu penetraciju, što ukazuje da taj veoma mali broj bakterija koji prelaze epitelnu barijeru, može igrati važnu ulogu u perzistenciji bakterije (Dubois A, Boren T, 2007).

3. Korišćenje ćelijskih površina kao mesta replikacije – Trećom hipotezom pretpostavlja se da *H. pylori* nije samo prolazno prikačen za površinu epitela, već da bakterija zapravo koristi ćelijske površine kao mesta replikacije. Još uvek ne postoje eksperimentalni dokazi da se *H. pylori* aktivno deli, kada je prikačen za ćelijsku površinu. Wunder C. i sar. (2006) navode da je *H. pylori* sposoban da direktno koristi holesterol, putem adhezije za ćelije domaćina, koji prihvata, modifikuje i ugrađuje u vlastitu ćelijsku membranu.

2.6. Adhezini *Helicobacter pylori*

Adhezini predstavljaju površinske proteine bakterijske ćelije, kojima se omogućava adherencija bakterije za ćelijsku membranu. Adherencija patogene bakterije *H. pylori* za gastričnu mukozu je prvi potrebn korak za kolonizaciju želuca i dalju patogenezu. Ona je osobito važna za zaštitu bakterije od kiselog pH želuca, sluzi i eksfolijacije (Smolka A.J, Backert S, 2012).

2.6.1. Spoljašnji membranski proteini (Outer membrane proteins – OMP)

Profil spoljašnjih membranskih proteina kod različitih sojeva *H. pylori* se bitno razlikuje od ostalih gram-negativnih bakterija. Oko 4% genoma *H. pylori* kodira neuobičajeno veliki skup spoljašnjih membranskih proteina (~ 64 OMP), podeljenih u 5 paralognih genetskih familija (Alm R.A, i sar., 2000). Ovakav neuobičajeni skup spoljašnjih membranskih proteina može biti odraz prilagođavanja *H. pylori* na uslove želudačne sredine u kojoj se nalazi. Najveća familija 1, sastoji se od Hop (za OMP *H. pylori*, 21 član), i Hor (za Hop srodne, 12 članova) proteina. Familije 2 i 3 se sastoje od Hof (za OMP *H. pylori*, 8 članova) i Hom (za spoljašnu membranu *H. pylori*, 4 člana) proteina. Familije 4 i 5 se sastoje od spoljašnjih membranskih proteina (6 članova) i OMP pumpe efluksa (3 člana). Ostali spoljašnji membranski proteini (~ 10 članova), nisu uključeni u okvire ovih familija. Članovi Hop familije dele veoma slične ili apsolutno identične sekvence u njihovim amino i karboksilnim terminalima, a obuhvataju i porine (Exner M.M, i sar., 1995), kao i nekoliko adhezina koji promovišu vezivanje za gastrični epitel (Mahdavi J, i sar., 2002). Pored toga, spoljašnji membranski proteini iz familije 3, Hom B, pokazalo se da podržavaju adherenciju *H. pylori* (Oleastro M, i sar., 2008). Nivo ekspresije

spoljašnjih membranskih proteina može biti menjan ili regulisan od strane nekoliko mehanizama, od kojih su najvažniji: konverzija gena, duplikacija gena, regulacija fazne varijacije i varijacija alela.

2.6.1.1. Bab A (Blood group antigen – binding adhesin A)

Glavni i najvažniji adhezin *H. pylori* je adhezin krvnih grupa, antigen-vezujući adhezin A, nazvan Bab A, Hop S ili OMP 28 (~ 80 KDa), koji je prvi identifikovani adhezin *H. pylori* (Moore M, i sar., 2011). Bab A posreduje u vezivanju bakterije za fukozilovani Le^b antigen krvnih grupa (Ilver D, i sar., 1998), za srodne terminalne rezidue fukoze prisutne kod krvne grupe O (H antigeni) kao i za A i B antigene (Aspholm-Hurtig M, i sar., 2004) eksprimiranih na površini mucina (MUC 1 i MUC 5B) i gastričnih epitelnih ćelija, dok Le^b je dominantan antigen želudačne sluznice (Sakamoto S, i sar., 1989). Ovaj adhezin se vezuje za determinante krvnih grupa, oba tip 1 i tip 4 jezgrinih lanaca (Benktander J, i sar., 2012), za mucin pljuvačke MUC 5B koji je glikoprotein bogat prolinom, kao i za nemucinski glikoprotein gp – 340 (Walz A, i sar., 2005; Walz A, i sar., 2009).

Adhezin Bab A je u bliskoj vezi sa paralogima Bab B (Hop T ili OMP 19) i Bab C (Hop U ili OMP 9), čija funkcija još nije u potpunosti utvrđena. Geni koji kodiraju Bab A, bab A i bab B promovišu ekstenzivnu 5' i 3' homologiju, (Pride D.T, Blaser M.J, 2002), što sugerise da verovatno srednji varijabilni region Bab A kodira specifičnu adhezivnu funkciju. U okviru varijabilnosti regiona, kod Bab A je zapaženo 5 različitih grupa alela (od AD 1 do AD 5), dok kod su Bab B ustanovljene 3 različite grupe alela (od BD 1 do BD 3). Kod svih ispitivanih sojeva *H. pylori*, niti jedan od ovih alela nije bio odlučujući faktor za vezivanje Le^b (Pride D.T, i sar., 2001). Dokazano je da je postojanje gena bab A u korelaciji sa postojanjem gena cag A (cytotoxin associated gene A) i vac A (vacuolating cytotoxin gene A) i da prisustvo ova 3 gena povećava rizik za gastritis, ulcer, gastrični kancer i MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) limfoma (Gerhard M, i sar., 1999). Na molekularnom nivou, Bab A posredovana adherencija za gastrične epitelne ćelije, predstavlja veoma važan patogeni mehanizam, koji može uticati na tok bolesti, preko povećanja inflamatornog odgovora u želucu (Prinz C, i sar, 2001). Vezivanje Bab A za Le^b je uključeno u indukciju prekida dvolančane DNA i posledično oštećenje DNA u ćelijama domaćina (Toller I.M, i sar., 2011).

Imunološke analize inflamatornog odgovora u želucu, otkrivaju da Bab A pozitivni sojevi *H. pylori*, obavljaju veću kolonizaciju i indukuju jaču sekreciju IL-8 (Interleukin – 8), u poređenju sa Bab A deficitnim sojevima (Rad R, i sar., 2002). Mongolski gerbili inficirani sa Bab A pozitivnim sojevima *H. pylori*, pokazuju veći stepen oštećenja sluznice, u poređenju sa sojevima *H. pylori* koji imaju manju ekspresiju Bab A ili sojevima koji ne ekspresiraju Bab A (Ohno T, i sar., 2011). Iznenadjući je podatak da mala grupa sojeva *H. pylori*, koji proizvode male količine Bab A i ne pokazuju aktivnosti vezivanja Le^b, se veoma često dovode u vezu sa opsežnijom inflamacijom sluznice želuca i ozbiljnijim kliničkim ishodom (Fujimoto S, i sar., 2007). Važnost adherencije u kolonizaciji želuca, bila je naglašena u nekoliko studija koji dokazuju da postoji pozitivna korelacija između Bab A posredovane adherencije za Le^b antigene i povećanja stepena kolonizacije. Individue sa ekspresijom Le^b u želucu su imale veći bakterijski denzitet, nego individue bez ekspresije Le^b (Rad R, i sar., 2002; Sheu B.S, i sar., 2003).

Bab A posredovano vezivanje *H. pylori* za Le^b može pokrenuti ćelijsku signalizaciju zavisnu od cag PAI (cytotoxin-associated gene Pathogenicity Island) i posledičnu produkciju proinflamatornih citokina (Aspholm-Hurtig M, i sar., 2004). Studije koje obrađuju rezus majmune (Solnick J.V, i sar., 2004) i mongolske gerbile (Ohno T, i sar., 2011), dokazuju da ne postoji ekspresija Bab A u slučajevima dužeg trajanja infekcije sa *H. pylori*, verovatno zbog postojanja drugih mehanizama adherencije. Ova zapažanja idu u prilog objašnjenju da promene u ekspresiji spoljašnjih membranskih proteina, mogu odigrati značajnu ulogu u adaptaciji *H. pylori* na gastričnom epitelu, u cilju promovisanja optimalne adherencije tokom hroničnih infekcija.

2.6.1.2. Sab A (sialic acid – binding adhesin A)

Adhezin koji vezuje sijalnu kiselinu, Sab A, Hop P ili OMP 17 (~ 70 KDa) je drugi najpoznatiji adhezin *H. pylori* (Yamaoka Y, 2008). Nakon infekcije sa *H. pylori* i inflamacije želudačne sluznice, stimuliše se sialil–dimerični Le^x glikosfingolipid, a Sab A posreduje u vezivanju bakterije za njega (Mahdavi J, i sar., 2002). Sab A zajedno sa Bab A sudeluje u vezivanju *H. pylori* za mucin pljuvačke MUC 5B, ali u manjoj meri (Walz A, i sar., 2005; Walz A, i sar., 2009). Brzo nakon početne kolonizacije izazvane od strane Bab A, dolazi do stimulacije Le^x, što omogućava Sab A posredovano vezivanje. Adherencija *H. pylori* na laminin, koji je protein ekstracelularnog matriksa je posredovano sa Sab A (Walz A, i sar., 2005). Sab A ima

veoma slični paralog, Sab B (Hop O, OMP 16). Krajevi 5' i 3' gena sab A, dele nukleotidni identitet sa još 2 gena, sab B (Alm R.A, i sar., 2000) i hop Q (OMP 27) (Talarico S, i sar., 2012), čije funkcije još nisu u potpunosti razjašnjene, ali smatra se da su oba involvirana u sposobnost za adherenciju *H. pylori* (Loh J.T, i sar., 2008). Sab A pozitivni status bakterije dovodi se u vezu sa gastričnim kancerom, intestinalnom metaplazijom i atrofijom korpusa kod Western sojeva (Yamaoka Y, i sar., 2008), ali ne i kod azijskih sojeva (Sheu B, i sar., 2006), što ukazuje na razlike između Sab A i kliničkog ishoda. Nakon nastanka gastritisa izazvanog sa *H. pylori*, dolazi do infiltracije gastrične mukoze neutrofilima i monocitima. Sab A se specifično vezuje za neutrofilne granulocite. Kao posledica ovog vezivanja, granulociti produkuju reaktivni kiseonik koji izaziva oksidativni prasak u tim ćelijama (Unemo M, i sar, 2005), čime se uzrokuje oštećenje gastričnog epitela, što ukazuje da je ipak Sab A pravi faktor virulencije *H. pylori* (Unemo M, i sar., 2005).

2.6.1.3. Alp A, Alp B (Adherence associated lipoproteins A i B)

Lipoproteini za koje je dokazano da su adhezini, Alp A (Hop C, OMP 20, ~ 56 KDa) i Alp B (Hop B, OMP 21, ~ 57 KDa) su kodirani homolognim susednim genima alp A i alp B (Alm R.A, i sar., 2000). Oba lipoproteina uzajamno deluju sa membranskim kompleksom *H. pylori* (Bernarde C., 2010) i involvirani su u kolonizaciju želuca (Odenbreit S, i sar., 1997). Korespondirajući mutanti nisu imali sposobnost da inficiraju želudac zamorca i mongolskog gerbila (Sugimoto M, i sar., 2011) ili su slabo kolonizovali želudac C57BL/6 miševa (Lu H, i sar., 2007). Za razliku od mnogih drugih spoljašnjih membranskih proteina, koji se produkuju u veoma varijabilnim koncentracijama, Alp A i Alp B imaju sposobnost snažne koprodukcije i eksprimirani su kod svih kliničkih izolata (Odenbreit S, i sar., 2009). Kao odgovor na oksidativni stres, stimuliše se ekspresija proteina Alp A (Huang C.H, Chiou S.H, 2011). Modulacijom proinflammatory intracelularnih signalnih kaskada nakon infekcije, Alp A i Alp B indukuju oštećenje gastrične mukoze (Lu H, i sar., 2007). Međutim u pogledu inflamatornog efekta alp AB lokusa, nakon infekcije miševa i gerbila dobijeni su potpuno različiti rezultati (Senkovich O.A, i sar., 2011), dok je sekrecija IL 8 indukovana delovanjem Alp A i Alp B povezana sa geografskim poreklom izolata (Lu H, i sar., 2007).

2.6.1.4. Oip A (Outer inflammatory protein A)

Spoljašnji inflamatorni protein A (Oip A, Hop H, OMP 13, ~ 34 KDa) inicijalno je identifikovan kao površinski protein koji promoviše sekreciju IL 8 na T4SS zavisani način *in vitro*, koji povećava gastričnu inflamaciju *in vivo* (Yamaoka Y, i sar., 2002). Ne postoji sumnja da je Oip A involviran u adherenciju bakterije za gastrične ćelije, *in vitro* (Dossumbekova A, i sar., 2006). Oip A pozitivni status je usko povezan sa ozbiljnijim oboljenjima želuca (duodenalni ulkus i gastrični kancer), većim denzitetom *H. pylori* i opsežnijim neutrofilnim infiltracijama (Markovska R, i sar., 2011; Armitano R, i sar., 2013), verovatno zbog njegove povezanosti sa ostalim faktorima virulencije ili zbog povećane adherencije bakterija i uspješnije kolonizacije (Dossumbekova A, i sar., 2006). Velika povezanost između bakterija sa Oip A pozitivnim statusom i cag A, ukazuje da Oip A može povećati sposobnost cag A pozitivnih sojeva *in vivo* (Dossumbekova A, i sar., 2006; Armitano R, et al., 2013). Oip A je involviran u fokalnim adhezionim kinaznim aktivnostima *H. pylori*, kao i u citoskeletnoj reorganizaciji gastričnih epitelnih ćelija u ranijim stadijumima *H. pylori* infekcije (Tabassam F.H, i sar., 2008).

2.6.1.5. Hop Z proteini

Gen hop Z (omp 1) kodiran je sa 74 KDa proteinom (681 rezidua) i lociran na površini bakterije (Peck B, i sar., 1999). Do sada nije identifikovan receptor za ovaj adhezin. U *in vivo* uslovima, uloga Hop Z proteina u adherenciji i kolonizaciji, nije razjašnjena. Nemogućnost produkcije Hop Z proteina, nije uticala na sposobnost bakterije da kolonizuje želudac zamorca (De Jonge R, i sar., 2004). Smatra se da ne postoji korelacija između ekspresije hop Z gena i ishoda oboljenja, osim kod sojeva kod kojih je dokazano da su uzročnici MALT limfoma i koji ekspimiraju manje količine ovog proteina (Chiarini A, i sar., 2009; Kennemann L, i sar., 2012).

2.6.1.6. Hom B proteini

Familija Hom proteina se sastoji od 4 člana i predstavlja najmanju familiju spoljašnjih membranskih proteina. Najizučavaniji gen je hom B koji kodira Hom B proteine (~ 75 KDa), ekspimirane na spoljašnjoj membrani *H. pylori* (Oleastro M, i sar., 2008). Sigurna uključenost

Hom B u ishod duodenalnog ulkusa ili gastričnog kancera nije u potpunosti razjašnjena i verovatno je vezana za geografsko poreklo izolata (Hussein N.R, 2011; Kang J, i sar., 2012).

2.7. Glavni receptori gastričnog epitela za adhezine *H. pylori*

2.7.1. Lewis antigeni

H. pylori adherira na epitelne ćelije želuca koje luče mukus, locirane na gornjoj polovini gastrične jame, ali ne i na obližnje ćelije vrata gastričnih žlezda koje takođe luče mukus ili na endokrine ćelije gastričnih žlezda. Glavne komponente mukusnog sloja koji oblaže želudac su mucini. Mucini osim što doprinose viskoznosti mukoznog sloja, predstavljaju i mesta vezivanja bakterija (Georgiades P, i sar., 2014). Mucini mogu biti izlučeni ili membranski vezani. Izlučeni mucini su MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC9 i MUC19 i svi imaju sposobnost formiranje gela (Linden S, i sar. 2008; Jonckheere N, i sar. 2013). Postoji 11 membranski povezanih mucina, od kojih je najviše izučavan MUC1 (Jonckheere N, i sar. 2013).

Kod zdrave gastrične mukoze, produkuju se MUC 1, MUC5AC i MUC 6. Membranski povezan MUC 1 je eksprimiran u foveolarnim ćelijama, mucin MUC5AC na foveolarnom epitelu i glavni je sastojak površinskog sloja mukoznog gela, dok je MUC 6 ograničen na ćelije vrata gastričnih žlezda. Antigeni krvnih grupa su grupa ugljenih hidrata prvobitno identifikovana kod eritrocita, ali su takođe eksprimirani i u epitelnom tkivu, uključujući i epitel želuca. Ekspresija MUC 6 dovodi se u vezu sa antigenima tipa 2, Le^x i Le^y, lociranim u dubini žlezde, kao na primer u glavnim ćelijama ili u parijetalnim ćelijama (Van den Brink G.R, i sar., 2000; Linden S, i sar., 2002). Studije pokazuju da je *H. pylori* veoma blisko povezan sa ekstracelularnim mucinom MUC5AC i sa epitelnim ćelijama koje produkuju MUC5AC, što ukazuje da MUC5AC, ali ne i MUC 6, igra ulogu u adherenciji *H.pylori* na gastričnu sluznicu (Nordman H, i sar., 2002). Pored toga, MUC 6 ispoljava antimikrobnu aktivnost (Kawakubo M, i sar., 2004). Glavni receptor za *H. pylori* ima strukturu Le^b karbohidrata i prisutan je u normalnom želučastom tkivu. MUC5AC je najvažniji nosilac Le^b pomoću povezanosti posredovane od strane Bab A (Van de Bovenkamp J.H, i sar., 2003).

2.7.2. Sijalinirani glukani

Sve osobe inficirane sa *H. pylori* razvijaju hronični gastritis, praćen teškim inflamacijama gastrične sluznice, a u određenim slučajevima razvijaju se i preneoplastične alteracije, kao što je atrofični gastritis i kasna faza intestinalne metaplazije (Correa P, 1992). U ovakvim uslovima, Le^b je slabo eksprimiran, a postoji i migracija Le^x povezana sa atrofijom epitela. Inflamacija gastrične mukoze dovodi do ekspresije sijaliniranih glukana, kao što su sijalil Le^a i sijalil Le^x. Kod ovakvih slučajeva, *H. pylori* se vezuje za sijalil Le^x pomoću adhezina Sab A (Mahdavi J, i sar., 2002). Shodno tome, dokazano je da interakcija između Sab A i sijalil Le^x antigena domaćina, poboljšava kolonizaciju *H. pylori* kod individua sa slabom ekspresijom ili bez ekspresije Le^b (Sheu B, i sar., 2006).

2.7.3. Uticaj mikrostrukture i viskoznosti mukusa na infekciju sa *H. pylori*

U želucu se bakterija može sresti u spoljašnjem viskoznom sloju mukusa, ali ne i u gustom mukusnom gel sloju koji adherira na površinu epitelnih ćelija (Hansson G.C, Johansson M.E.V, 2010; McGuckin M.A, i sar., 2011). Samo nekoliko vrsta bakterija su stanovnici mukusnog sloja želuca, dok većina nije sposobna da preživi njegovu kiselu sredinu (Bik E.M, i sar., 2006). *Helicobacter pylori*, najstariji i najčešći stanovnik gastrične sluznice, od kisele sredine želuca se brani sekrecijom enzima ureaze, koji hidrolizuje ureju na amonijak, vodu i CO₂ koji neutrališu hlorovodoničnu kiselinu (Sidebotham R.L, i sar., 2003; Sachs G, i sar., 2005). Način na koji bakterija *H. pylori* prolazi sluznu barijeru želuca kako bi kolonizirala epitel želuca (Montecucco C, Rappuoli R, 2001) nije u potpunosti razjašnjen. Uobičajeno stanovište da bakterija buši sluzni gel kao spiralni otvarač (Yoshiyama H, Nakazawa T, 2000; Montecucco C, Rappuoli R, 2001) verovatno nije tačno, jer najnovija ispitivanja dokazuju da je *H. pylori* nepokretan u sluznom gelu želuca svinje (PGM – porcine gastric mucin) u uslovima kisele sredine, iako flagela bakterije rotira i daje pokretljivost. Ustanovljeno je da se kretanje kroz gel postiže putem istih biohemijskih mehanizama koje *H. pylori* koristi za vlastito preživljavanje u kiseloj sredini, tačnije hidrolizujući ureju čime dolazi do povišenja pH sredine. Povišenjem pH i njegovim približavanjem ka neutralnom, transformiše se viskoelastični mucinozni gel u visokolikvidan, što omogućava „plivanje” bakterije u viskoznom rastvoru (Celli J.P, i sar., 2009). Spiralni oblik

bakterijske ćelije omogućava brže kretanje u viskoznom rastvoru, a dokazalo se da je isti važan i za kolonizaciju, jer mutanti *H. pylori* štapićastog i „S” oblika, iako pokretni u mekom agaru, nisu efikasni u kolonizaciji (Sycuro L.K, i sar., 2010; Sycuro L.K, i sar., 2012).

Poznato je da prilikom postojanja infekcije sa *H. pylori*, dolazi do smanjenja produkcije mucina i menjanja njihovog sastava (Linden S, 2004). Byrd J.C. i sar. (1997) ističu da je MUC6 koji se normalno dovodi u vezu sa mukoznim ćelijama gastričnih žlezda, eksprimiran je na površinskim gastričnim ćelijama kod individua inficiranih sa *H. pylori*, dok MUC5, komponenta površinskih mukoznih ćelija, opada. Navabi N. i sar. (2013) navode da nivo MUC1 opada kod miševa inficiranih sa *H. pylori*. Hronične infekcije dovode do intestinalne metaplazije, pri čemu gastrični mukus razvija karakteristike intestinalnog mukusa (Hidaka E, i sar., 2001).

2.8. Faktori virulencije *H. pylori*

Faktori virulencije koje luči *H. pylori* deluju na samom početku infekcije, bez direktnog kontakta ili adhezije za ćelije domaćina. Analizom sekreta bakterije *H. pylori*, otkriven je veoma široki spektar izlučenih ili ekstracelularnih faktora (Backert S, i sar., 2005; Smith T.G, i sar., 2007). U patogenezi infekcije izazvane *H. pylori*, ključnu ulogu imaju sledeći faktori virulencije: cag PAI (posreduje translokaciji bakterijskog efektornog proteina Cag A unutar epitelnih ćelija želuca) (Odenbreit S, i sar., 2000), Cag A (uključen u dezintegraciju apikalnih intercelularnih veza) (Del Giudice G, Michetti P, 2004), Vac A (izaziva masovnu vakuolarnu degradaciju epitelnih ćelija) (Szabo I, i sar., 1999) i NAP (neutrophil-activating protein) koji igra značajnu ulogu u mobilizaciji i aktivaciji inflamatornih ćelija u *lamina propria* mukoze (Dundon W.G, i sar., 2002).

2.8.1. Ureaza

H. pylori ima sposobnost preživljavanja u kiseloj sredini želuca (Hazell S.L, Lee A, 1986), preko hidrolizovanja ureje i povećanja pH okoline, čime izbegava aciditet gastričnog lumena (Sidebotham R.L, i sar., 2003; Sachs G, i sar., 2005), penetrira kroz debeli mukozni gel i dospeva do površinskog epitela želuca. Ureazni kompleks se često opisuje kao faktor virulencije, prisutan na površini *H. pylori*. Primarna funkcija ureaznog mehanizma je puferisanje acidnog pH

i neutralizacija gastrične kiseline u okolini bakterije, konverzijom ureje u amonijak i CO₂. Značaj ureaze za uspešnu kolonizaciju želuca je istaknut u nekoliko studija (Eaton K.A, i sar., 1991; Kavermann H, i sar., 2003). Međutim, pojedini izveštaji ukazuju da i ureaza negativni sojevi *H. pylori* poseduju sposobnost kolonizacije želuca (Mine T, i sar., 2005). Pored uloge u uspešnoj kolonizaciji želuca, ureaza može indirektno da remeti ćelijske funkcije domaćina. Produkcija amonijaka zavisna od ureaze, doprinosi gubitku integriteta čvrstih veza u epitelu, što je dokazano smanjenjem transepitelijalne električne otpornosti i povećanjem procesuiranja i internalizacije okludina u kulturama *in vitro* (Lytton S.D, i sar., 2005). Efekat ureaze na integritet čvrstih spojeva potvrđen je studijama koji dokazuju da delecija Ure B poništava sposobnost *H. pylori* za remećenje čvrstih veza, kao procesa nezavisnog od Cag A ili Vac A (Wroblewski L.E, i sar., 2009).

2.8.2. γ – glutamil transpeptidaza (GGT)

Istraživanja su pokazala da protein sa malom molekularnom masom koga luči *H. pylori*, identifikovan kao inhibitorski faktor GGT, indukuje zastoj ciklusa T-ćelija (Schmees C, i sar., 2007) i suprimira njihovu proliferaciju (Gerhard M, i sar., 2005). Nedavna ispitivanja obavljena kod ljudi i miševa, ukazuju da GGT doprinosi toleranciji dendritskih ćelija, menjajući odgovor T ćelija (Oertli M, i sar., 2013). GGT doprinosi pojavi gastrične inflamacije preko generisanja H₂O₂, aktivacijom NF- κ B (nuclear factor κ B) i stimulacijom sekrecije IL-8 u epitelnim ćelijama želuca (Gong M, i sar., 2010). U svojim izveštajima Rimbara E. i sar. (2013) ističu da je derivacija glutamina indukovana od strane GGT, odgovorna za indukciju gastrične inflamacije i povećanje rizika za pojavu gastričnog kancera.

2.8.3. Htr A (High temperature requirement A)

Sekrecija Htr A od strane *H. pylori* je otkrivena pre više od 10 godina, sveobuhvatnom analizom njegovih sekreta (Bumann D, i sar., 2002; Smith T.G, i sar., 2007). Zapravo, sekretovani Htr A je veoma stabilan u uslovima ekstremnog aciditeta, što ukazuje da doprinosi uspostavljanu infekcije i njene perzistentnosti, *in vivo* (Hoy B, i sar., 2013). Dokazano je da se Htr A izlučuje u ekstracelularne prostore u obliku aktivne serin proteaze (Lower M, i sar., 2008),

gde cepa ekstracelularni domen adhezije molekule i tumor supresornog E-kadherina (Hoy B, i sar., 2010). Mehanički, odbacivanje ektodomena E-kadherina, dovodi do lokalnih poremećenja adherentnih spojeva polarizovanih epitelnih ćelija želuca, što omogućava ulazak bakterije u međućelijski prostor (Hoy B, i sar., 2010). Ova činjenica je potkrepljena zapažanjem da u gastričnim biopsatima pacijenata sa gastričnim kancerom, *H. pylori* može biti detektovan i intercelularno (Necchi V, i sar., 2007).

Sposobnost da purifikovani Htr A cepa E-kadherin u gastričnim epitelnim ćelijama, dokazana je i kod ostalih patogena gastrointestinalnog trakta, kao što su: *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* i *Campylobacter pylori* (Hoy B, i sar., 2012). Ovo ukazuje da Htr posredovano cepanje E-kadherina nije unikatna osobina *H. pylori*, ali može predstavljati opšti mehanizam za promociju bakterijske patogeneze preko virulentnih faktora koji zahtevaju transmisiju kroz polarizovani epitel.

2.8.4. Dup A (Duodenal ulcer – promoting gene A)

Još uvek nije utvrđeno da je dup A faktor virulencije *H. pylori* koji je uključen u inflamaciju želuca. Povezanost između dup A i povećanog nivoa ekspresije IL-8, ispitivana je u sluznici želuca osoba inficiranih sa *H. pylori* (Hussein N.R, i sar., 2010; Jung S.W, i sar., 2012), ali nije dokazano da dup A1 ili dup A2 indukuju sekreciju IL-8 u gastričnim epitelnim ćelijama. Navedeno je da dup A1 povećava ekspresiju proinflamatornih citokina IL-12 p40, IL-12 p70 i IL-23 od strane CD 14+ mononuklearnih ćelija, čime se može objasniti na koji način dup A1 doprinosi gastričnoj inflamaciji (Hussein N.R, i sar., 2010).

2.8.5. Vac A (Vacuolating cytotoxin A)

Prve dokaze o postojanju ovog toksina, koji je kasnije identifikovan kao Vac A (Cover T.L, Blaser M.J, 1992), dali su eksperimenti koji su koristili bujonsku kulturu *H. pylori*, 1988 godine (Leunk R.D, i sar., 1988). Svi sojevi bakterije *H. pylori* nose gen vac A, zadužen za kodiranje proteina Vac A. Postoji značajna genetska raznovrsnost u genu vac A, tako da različiti aleli pokazuju različitu citotoksičnost. Da bi Vac A uspešno intoksicirao ćelije, on mora biti izlučen od strane bakterije i isporučen u aktivnom obliku do ćelijskih membrana u kojima se

skuplja unutar pora, čime se omogućava prolazak hlornih jona (Iwamoto H, i sar., 1999). Nivo ekspresije, specifična toksičnost i težina bolesti, povezane su sa varijacijama sekvenci u različitim domenima Vac A (Palframan S.L, i sar., 2012). Celularni odgovor na delovanje Vac A se proteže od vakuolizacije i apoptoze, do inhibicije funkcija T ćelija (Cover T.L, Blanke S.R, 2005; Rassow J, 2011).

Vac A je polipeptid od 140 KDa koji je tokom sekrecije iz bakterijskih ćelija, presvučen na oba kraja. Kao posledica mozaične genetske strukture, Vac A je veoma heterogen i egzistira u različitim varijantama i sa različitim aktivnostima. Sojevi koji poseduju s1 tip Vac A proizvode aktivan toksin i obično dovode se u vezu sa ulcerom i gastričnim kancerom (Atherton J.C, i sar., 1995). Karboksilni kraj proVac A peptida je uključen u transport toksina izvan bakterijskih spoljašnjih membrana i isti je odsutan kod maturiranog toksina (Nguyen V.Q, i sar., 2001). Maturirani Vac A protein je veličine 88 KDa i nakon sekrecije se dalje procesira na dve podjedinice u skladu sa svojom molekularnom masom nazvane Vac A^{p33} i Vac A^{p55}, koje formiraju membranske heksamere (Iwamoto H, i sar., 1999). Torres V.J. i sar. (2005) navode da Vac A^{p33} i Vac A^{p55} ulaze u međusobnu interakciju što doprinosi vezivanju, internalizaciji i toksičnoj aktivnosti Vac A. Pretpostavlja se da je domen Vac A^{p55} primarno odgovoran za vezivanje za target ćelije (Garner J.A, Cover T.L, 1996), dok je za vakuolizaciju neophodna sekvenca sastavljena od celokupnog Vac A^{p33} i prvih 100 aminokiselina Vac A^{p55} (Ye D, i sar., 1999). Oko 50% od količine izlučenog toksina Vac A ostaje vezano za površinu bakterije, a ostala količina se oslobađa. Molekule Vac A koje ostaju vezane za bakterijsku površinu su funkcionalne i direktnim adherentnim kontaktom sa ćelijskom membranom domaćina se isporučuju (Ilver D, i sar., 2004). Slobodni proteini oligomerizuju i obrazuju molekulske komplekse, formirajući prstenaste strukture u obliku cveta (Reyrat J.M, i sar., 2000). Nije razjašnjeno da li su ovakvi slobodni kompleksi toksigeni, jer su biološki neaktivni, osim ako su delovanjem visokih ili niskih vrednosti pH disocirani do monomernih oblika, pogodnih za preuzimanje od ćelijskih membrana.

Precizni mehanizam unošenja Vac A u target ćelije, nije u potpunosti razjašnjen, a opisano je nekoliko pretpostavljenih receptora. Površinski receptor EGFR (epidermal growth factor receptor) prisutan i u epitelnim ćelijama može se smatrati potencijalnim kandidatom za koji se vezuje Vac A, pre njegove internalizacije (Seto K, i sar., 1998). RPTP α (receptor protein tyrosine phosphatases α) (Yahiro K, i sar., 2003) i RPTP β (receptor protein tyrosine

phosphatases β) (Yahiro K, i sar., 1999) opisani su kao receptori za Vac A koji promovišu internalizaciju zavisnu od Vac A. De Guzman B.B. i sar. (2005) navode da obe forme Vac A proteina imaju sposobnost vezivanja za RPTP α i RPTP β receptore. Shirasaka D. i sar. (2006) pretpostavljaju da vezivanje Vac A za RPTP zeta/beta izaziva razdvajanje epitelnih ćelija i dovodi do stvaranja gastričnih ulceracija.

Vac A se luči putem autotransportnog sekrecionog sistema tip V, dok u ćelije ulazi endocitozom. Gauthier N.C. i sar. (2005) su istraživali puteve endocitoznog i intracelularnog transporta koje Vac A koristi u epitelnim ćelijama. Vac A se prvenstveno vezuje sa domenima plazma membrana, pinocitozom ulazi u rane endocitotičke odeljke. Kasnije se locira u membranama kasnih endozomalnih vezikula, pomoću aktivnosti hloridnih kanala formira pore, menja sastav anjona unutar endozoma, što posledično dovodi do osmotskog bubrenja i formiranja vakuola. Terebiznik M.R. i sar. (2006) smatraju da vakuole formirane od strane *H. pylori* kao rezultat delovanja Vac A, štite bakteriju od baktericidnih komponenata lizozoma, čime podržavaju opstajanje bakterije i doprinose perzistenciji infekcije.

Glavna posledica intoksikacije gastričnih epitelnih ćelija sa Vac toksinom je indukcija apoptoze ćelija, preko formiranja pora u membrani mitohondrija (Rassow J, 2011) ili indirektno aktivacijom proapoptičkih signalnih molekula (Yamasaki E, i sar., 2006). Precizni način prenosa Vac A od endozoma do unutrašnje membrane mitohondrija, ostaje nepoznat. Vac A se vezuje za sfingomijeline, što se dokazalo važnim za vakuolizaciju posredovanu od Vac A (Gupta V.R, i sar., 2008). Suprotno stvaranju velikih vakuola, Vac A promoviše formiranje autofagozoma u gastričnim epitelnim ćelijama, za šta je neophodna aktivnost toksina u formiranju kanala (Terebiznik M.R, i sar., 2009). Purifikovani i kiselinom aktivirani Vac A menja i remeti transepitelijalni električni potencijal polarizovanih epitelnih ćelija (Papini E, i sar., 1998), što se smatra bitnim indikatorom integriteta epitelne barijere.

Vac A utiče na inflamatorni odgovor domaćina, uglavnom inhibicijom aktivacije T ćelija, a posredovan je aktivacijom NF- κ B, što dovodi do stimulacije sekrecije IL-8 (Takeshima E, i sar., 2009).

2.8.6. Cag A (Cytotoxin - associated gene A)

Cag A je verovatno najtemeljnije proučavani faktor virulencije *H. pylori*. Na osnovu sposobnosti produkcije 120 – 145 KDa imunodominanog proteina Cag A, sojevi *H. pylori* se mogu podeliti na dve osnovne subpopulacije (Tummuru M.K, i sar., 1993). Gen cag A koji kodira ovaj protein, lokalizovan je na jednom od krajeva cag PAI (40 KDa segment DNA), inkorporiranog u genomu *H. pylori*. Segment cag PAI sadrži oko 31 gen (uključujući i gen cag A) koji kodiraju komponente T4SS (Type IV secretion system) (Akopyants N.S, i sar., 1998), odgovornog za translokaciju proteina iz unutrašnjosti bakterije u spoljašnju sredinu. Kao rezultat ekstracelularnog opadanja pH, dolazi do translokacije intrabakterijalnog Cag A iz centralnih u periferne delove citoplazme (Wu H., i sar., 2005). Na unutrašnjoj membrani bakterije, Cag A asocira sa Cag F molekulom, odgovornom za njegovu isporuku unutar gastričnih epitelnih ćelija (Couturier M.R, i sar., 2006). Neki od komponenata T4SS, kao što je Cag T (Lei D.H, i sar., 2012) su esencijalni za translokaciju Cag A proteina, dok drugi igraju važnu ulogu u inflamatornom odgovoru domaćina. Komponenta Cag L indukuje inflamaciju putem interakcije sa integrinima domaćina i stimuliše sekreciju IL-8 na način nezavisan od NOD (Gorrell R.J, i sar., 2013). Cag A je jedini poznati bakterijski efektorni protein koji se može translocirati putem T4SS, iako i bakterijski peptidoglikani mogu ući unutar ćelije posredstvom T4SS i aktivirati inflamatorni odgovor posredovan NOD 1 (Viala J, i sar., 2004). Infekcije koje izazivaju cag A pozitivni sojevi *H. pylori* dovode se u vezu sa višim stepenima inflamacije gastrične mukoze i atrofičnog gastritisa, a pretpostavlja se da ovaj protein igra važnu ulogu i u razvoju gastričnog karcinoma (Nomura M.A, i sar., 2002).

Nakon vezivanja Cag A-pozitivnih sojeva za gastrične epitelne ćelije, protein Cag A se ubrizgava direktno u ćelije putem pilusne formacije T4SS (Stein M, i sar., 2002), pa se zatim translocira u unutrašnje površine plazma membrana, gde podleže tirozinskoj fosforilaciji. Generalno, tirozinska fosforilacija igra ključnu ulogu u prenošenju intracelularne signalizacije za rast, motilitet ili diferencijaciju ćelija kod sisara. Shodno tome, nakon tirozinske fosforilacije, Cag A protein remeti signalnu transdukciju i time izaziva ćelijsku disfunkciju što na kraju dovodi do ćelijske transformacije okarakterisane elongacijom i citoskeletnim preuređenjem, koja se naziva „hummingbird” ili kolibri fenotip. Cag A ima snažan efekat i na apikalni kompleks veza epitelijalnih ćelija (Franco A.T, i sar., 2005; Murata-Kamiya N, i sar., 2007). Apikalne veze

epitelijalnih ćelija formiraju barijeru između lumena i intersticijalnog prostora, a regulišu i osnovne epitelijalne funkcije kao što su: uspostavljanje apikalnog i bazalnog polariteta i međućelijsku adheziju, a formiranjem paracelularnih barijera onemogućavaju slobodni prolaz molekula. N-terminalni kraj Cag A targetira proteine epitelijalnih veza (Bagnoli F, i sar., 2005), obrazuje komplekse sa proteinima ZO-1 (zona occludens-1), JAM (junctional adhesion molecules) i E-kadherinom, čime remeti integritet i funkciju čvrstih adherentnih veza (Murata-Kamiya N, i sar., 2007). Fenotipski, ovo dovodi do deregulacije epitelnih međućelijskih adhezija, gubljenja polariteta epitelnih ćelija i njihovog pretvaranja u invazivne ćelije karcinoma (Bagnoli F, i sar., 2005). Takođe, pokreću se promene i u diferencijaciji ćelija, što može doprineti intestinalnoj metaplaziji. Eksperimentima na ćelijskim kulturama, dokazano je da najvažniji ciljni celularni put Cag A *in vivo*, su epitelne veze naročito između E-kadherina/ β katenina, kojim je regulisana adhezija epitelnih ćelija, formiranje veza i kontrolisanje rasta ćelija (Franco A.T, i sar., 2005; Murata-Kamiya N, i sar., 2007).

2.8.7. HP NAP (*Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein)

Jedan od brojnih faktora virulencije *H. pylori* je i NAP (neutrophil-activating protein) (Satin B, i sar., 2000). Ovaj bakterijski citosolni protein nakon oslobađanja putem bakterijske lize, vezuje se za površinu bakterijske spoljašnje membrane gde deluje kao adhezin, posredujući vezivanju za mucine (Namavar F, i sar., 1998) ili za sfingomijelin polimorfonuklearnih granulocita (Teneberg S, i sar., 1997). HP NAP pokazuje i proinflamatorne aktivnosti, hemotaktičan je za polimorfonuklearne granulocite i monocite kod kojih indukuje ekspresiju za β 2- integrine, što je neophodno za endotelnu transmigraciju (Satin B, i sar., 2000). Dokazano je da ovaj protein promoviše adheziju neutrofila za endotelne ćelije (Evans D.J, i sar., 1995), a preko intracelularnih kaskada aktivira NADPH (nicotine adenine dinucleotide phosphate) oksidaze na produkciju ROS-a (reactive oxygen species) (Satin B, i sar., 2000; Dundon W.G, i sar., 2002). Dokazano je da HP NAP stimuliše Th1 imuni odgovor indukcijom produkcije citokina, kao na primer IL-12 i IL-23 (De Bernard M, D'Elis M.M, 2010).

2.8.8. α CgT (Holesteril α - glikozil transferaza)

Holesteril α -glikozil transferaza (α CgT - cholesteryl α -glucosyltransferase) je nedavno identifikovana kao faktor virulencije (Ito Y, i sar., 2013). Aktivnost α CgT u kliničkim izolatima je uveliko povezana sa stepenom gastrične atrofije, što je potvrđeno rezultatima prepoznavanja holesteril α -glikozida sa strane invarijantnih NK T ćelija (iNKT – invariant natural killer T cells). Prilikom infekcije izazvane sa *H. pylori* sa visoko aktivnom α CgT, miševi sa deficitom iNKT ćelija pokazali su veći kvantitet bakterija i manju produkciju Th1 i Th2 citokina, u poređenju sa divljim tipovima miševa (Ito Y, i sar., 2013).

2.8.9. Ice A (induced by contact with epithelia)

Ice A se takođe smatra faktorom virulencije, iako njegova funkcija još nije poznata. Većina studija ukazuju da ne postoji korelacija između ice A i cag A statusa, ali nekim studijama došlo se do saznanja da postoji korelacija između ice A1 i nivoa mukoznog IL-8 (Donahue J.P, i sar., 2000).

2.9. Imuni odgovor domaćina na delovanje *Helicobacter pylori*

2.9.1. Prepoznavanje *H. pylori* od strane ćelija urođenog imunog sistema

Urođeni imuni sistem nije važan samo za indukciju odbrambenog sistema domaćina kao rezultat delovanja mikrobijalnih patogena, već i za razvijanje adaptivnog imunog odgovora (Pasare C, Medzhitov R, 2005; Fritz J.H, i sar., 2007). Ćelije urođenog imunog sistema, kao i epitelne ćelije, formiraju prvu barijeru protiv infekcija detekcijom bakterijskih struktura takozvanih PAMPs (pathogen associated molecular patterns). PAMPs obuhvataju nukleinske kiseline mikroba i komponente ćelijskog zida i flagela, kao što su: peptidoglikani, lipopolisaharidi, lipoproteini i flagelin (Ishii K.J, i sar., 2008). Prepoznavanje PAMPs-a obavlja se od strane takozvanih PRRs (pattern recognition receptors), lokalizovanih na citoplazmatskim ili endozomalnim membranama (Toll-like receptors) ili u citosolu (NOD-like receptors) (Brodsky I.E, Monack D, 2009). PRRs nisu prisutni jedino u ćelijama hematopoetskog sistema,

već i u gastričnim epitelnim ćelijama koje predstavljaju prvu odbrambenu liniju protiv infekcije sa *H. pylori* (Schmausser B, i sar., 2004). Vezivanje bakterijskih komponenata za TLR rezultira aktivacijom proinflamatornih nuklearnih transkriptornih faktora, dok većina NOD-like receptora su involvirana u formiranje multiproteinskih kompleksa, takozvane „inflamazome” koji obrađuju pro-IL-1 β i pro-IL-18 i omogućuju stvaranje maturiranih, bioaktivnih citokina (Brodsky I.E, Monack D, 2009).

2.9.1.1. Tool-like receptori (TLR)

Prvi identifikovani PRR kod sisara za koje se ispostavilo da igraju odbrambenu ulogu u bakterijskim infekcijama su Toll-like receptori (Akira S, i sar., 2006). TLR su eksprimirani kod različitih ćelija urođenog imunog sistema, kao što su dendritske ćelije i makrofagi, ali i kod nelimfoidnih ćelija kao što su epitelne ćelije (Takeda K, i sar., 2003). Ovi receptori su lokalizovani na ćelijskoj površini ili povezani su sa intracelularnim vezikulama, kao što su endozomi (Kawai T, Akira S, 2011). TLR su eksprimirani kod intestinalnih epitelnih ćelija (Kwok T, i sar., 2007) ali i kod gastričnih epitelnih ćelija (Lee S.K, i sar., 2003). Nakon prepoznanja PAMPs, TLR pokreću signalne puteve ćelija što rezultira: aktivacijom NF- κ B (transcription factors nuclear factor- κ B), Ap-1 (activating protein-1) i IRF (interferon regulatory factors); ekspresijom inflamatornih citokina, antimikrobnih peptida i IFN (interferon) tip1; posledičnom mobilizacijom neutrofila, aktivacijom makrofaga i dendritskih ćelija i indukcijom IFN-stimuliranih gena. TLR2 i TLR4 prepoznaju lipoproteine gram-negativnih bakterija (Takeuchi O, i sar., 1999), dok TLR4 specifično vezuje i bakterijske lipopolisaharide (Poltorak A, i sar., 1998), a igra i parcijalnu ulogu u aktivaciji dendritskih ćelija i produkciji citokina kao odgovor na delovanje *H. pylori* (Rad R, i sar., 2009). Bakterijski flagelin je specifično prepoznat sa strane TLR5 (Hayashi F, i sar., 2001). Nekoliko studija ukazuju na sposobnost bakterijskog flagelina da funkcioniše kao glavni agonist proinflamatornog odgovora epitelnih ćelija želuca čoveka (Zeng H, i sar., 2003). TLR9 prepoznaje i vezuje bakterijske CpG DNA mikrobne obrasce (Takeda K, Akira S, 2003).

2.9.1.2. Nucleotide-binding oligomerisation domain receptor (Nod-like receptori - NLR)

Heterogena familija citoplazmatskih Nod-like receptora detektuje širok spektar PAMPs, a esencijalna je za prepoznavanje DAMPs (damage associated molecular patterns) koji se oslobađaju iz inficiranog tkiva domaćina kao rezultat poremećene tkivne homeostaze (Strowig T, i sar., 2012). NLR su podeljeni u dve kategorije: NOD1 i NOD2 koji prepoznaju metabolite i aktiviraju faktora NF- κ B (Kim Y.G, i sar., 2008). NOD1 je uključen u odbrambeni sistem organizma protiv infekcija izazvani gram-negativnim bakterijama (Viala J, i sar., 2004). NOD1 je uglavnom lokalizovan unutar epitelnih ćelija i u manjoj meri u monocitima u *lamina propria*, dok je NOD2 zastupljeniji u ćelijama monocitno/makrofagnog porekla (Hisamatsu T, i sar., 2003).

2.9.2. Ćelije urođenog imunog sistema

Karakteristično obeležje inflamacije želuca, koja se javlja kao posledica infekcije sa *H. pylori* je prisustvo inflamatornih infiltrata u mukozi želuca sastavljenih od polimorfonuklearnih leukocita i mononuklearnih ćelija (Rauws E.A.J, i sar., 1998) i povećanih nivoa proinflamatornih citokina kao što su: IL-1 β , TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL-8 i IL-6 (Crabtree J.E, i sar., 1993). Histološki, hronični gastritis izazvan delovanjem *H. pylori* karakteriše se degeneracijom površinskog epitela, infiltracijom mukoze hroničnim inflamatornim ćelijama (limfociti, plazma ćelije i povremeno eozinofili) i prisustvom „aktivnih“ komponenata sačinjenih od neutrofila (Dixon M.F, i sar., 1996).

2.9.2.1. Neutrofili

Aktiviranje neutrofila i njihova mobilizacija u mukozi želuca obavlja se pod uticajem: hemotaktičkih peptida izlučenih od strane epitelnih ćelija (hemokini) kao što su IL-8 i GRO- α (growth related oncogene- α), proinflamatornih citokina oslobođenih od strane mononuklearnih fagocita (TNF- α , IL-1 i IL-6) i posebno adhezionim delovanjem virulentnog faktora HP-NAP

izlučenog od strane *H. pylori*. Smatra se da HP-NAP olakšava adheziju neutrofila za endotelne ćelije (Wroblewski L.E, i sar., 2010).

Citokini koji pokazuju hemotaktičke aktivnosti za polimorfonuklearne leukocite, nazivaju se hemokini (Baggiolini M, i sar, 1994). Na bazi uređenja prve 2 cisteinske rezidue, hemokini su podeljeni na 2 velike familije: C-X-C i C-C. Članovi C-X-C familije (pr. IL-8, GRO- α) pokazuju specifične hemotaktičke sposobnosti za neutrofile, dok članovi C-C familije hemokina (pr. RANTES – regulated on activation, normal T cell expressed and secreted, MIP-1 α – macrophage inflammatory protein 1 α) pokazuju hemotaktičke aktivnosti za monocite i limfocite (Nilius M, Malfetherheiner P, 1996) ali imaju slabe efekte na neutrofile (Taub D.D, Oppenheim J.J, 1994). Brojne studije ukazuju da su gastrične epitelne ćelije važan izvor hemokina (Crabtree J.E, i sar., 1994; Sharma S.A, i sar., 1995) koje oslobađaju kao odgovor na patogeno delovanje *H. pylori* (Aihara M, i sar., 1996) i endogenih proinflamatornih medijatora (Yashimoto K, i sar., 1992). Kod hroničnih aktivnih gastritisa izazvanih *H. pylori*, hemokini IL-8 i GRO- α koje luče gastrične epitelne ćelije i makrofagi u *lamina propria*, osim što pokazuju hemoatraktantnu aktivnost prema neutrofilima, u isto vreme regulišu i njihovu migraciju iz krvnih sudova mukoze u gastrični epitel (Eck M, i sar., 2000). Većina studija ukazuje da je aktivnost neutrofila prilikom postojanja gastritisa povezana sa povećanim nivoima IL-8 i GRO- α (Yamaoka Y, i sar., 1998). Hemokini poreklom od epitelnih ćelija mogu biti osobito važni u ranijim stadijuma *H. pylori* infekcije, kada je epitel prva i krucijalna linija odbrane organizma na bakterijsku infekciju.

Smatra se da neutrofili igraju centralnu ulogu u patogenezi gastritisa koji je posledica infekcije sa *H. pylori*. Osim što štite organizam domaćina od patogenog delovanja bakterije, neutrofili izazivaju i oštećenja želudačne mukoze za vreme inflamacije (Israel D.A, Peek R.M, 2001). Virulentni faktor HP NAP igra krucijalnu ulogu u mobilizaciji neutrofila u inflamiranu mukozi u cilju pokretanja inflamatornog odgovora tokom infekcije sa *H. pylori*. Ovaj protein aktivira neutrofile stimulišući ih da produkuju ROS i luče mijeloperoksidaze (Wang C.A, i sar., 2008). Od strane fagocita koriste se velike količine ROS u cilju uništenja patogenih bakterija. Međutim u gastričnoj mukozi inficiranoj sa *H. pylori*, ROS nisu sposobni da unište patogene i smatra se da je njihova prekomerna produkcija glavni uzročnik oksidativnog stresa gastričnih ćelija, što dovodi do njihovog oštećenja (Handa O, i sar., 2010). Oksidativni stres igra važnu ulogu u promenjenoj proliferaciji ćelija, povećanoj apoptozi i oštećenju DNA (Clement M.V, Pervaiz S, 1999) u infekcijama izazvanim sa *H. pylori*. Pored aktiviranih fagocitnih leukocita

mobilisanih u gastričnoj mukozi tokom infekcije sa *H. pylori* koji oslobađanjem ROS-a izazivaju oksidativni stres, ispostavilo se da i sam *H. pylori* generiše ROS (Nagata K, i sar., 1998) kojeg akumulira u epitelnim ćelijama želuca (Bagchi D, i sar., 2002).

2.9.2.2. Makrofagi i monociti

Makrofagi su ćelije urođenog imunog odgovora koje reaguju na produkte sintetizovane od strane *H. pylori* i na signale iz epitelних ćelija na površini mukoze koje su u direktnom kontaktu sa bakterijama. Monociti i makrofagi su važni koordinatori imunološkog odgovora na patogene, a kod infekcije sa *H. pylori* zajedno sa dendritskim ćelijama preko sinteze citokina, kao što je IL-12 verovatno su i aktivatori adaptivnog imunog odgovora (Meyer F, i sar., 2003) koji stimuliše Th1 ćelije na produkciju IFN- γ . HP NAP doprinosi Th1 polarizaciji stimulacijom neutrofila ali i monocita na sekreciju IL-12 i IL-23 (Amedei A, i sar., 2006). Makrofagi su takođe uključeni u pojačanje inflamatornog odgovora produkcijom citokina akutne faze: IL-1, TNF- α i IL-6 (Gobert A.P, i sar., 2004) a funkcionišu i kao efektorne ćelije u imunom odgovoru domaćina.

2.9.2.3. Dendritske ćelije

Dendritske ćelije predstavljaju važnu populaciju antigen-prezentujućih ćelija čija glavna uloga je hvatanje, procesuiranje i prezentovanje antigena T ćelijama, iniciranje oslobađanja citokina i aktiviranje imunog odgovora (Zou W, 2005; Lenahan C, Avigan D, 2006). Interakcija između patogena i imune ćelije digestivnog trakta, prvenstveno dendritske ćelije, igra glavnu ulogu u usmeravanju tipa adaptivnog imunog odgovora prema *H. pylori* (Shiu J, Blanchard T.G, 2013). Ova interakcija se odigrava u lumenu digestivnog trakta tako što dendritske ćelije pomoću svojih produžetaka ulaze između čvrstih veza epitelnih ćelija digestivnog trakta (Rescigno M, i sar., 2010). Nakon hvatanja antigena, dendritske ćelije procesuiraju i konvertuju njegove proteine u peptide koje prezentuju u okviru MHC (major histocompatibility complex) molekula T ćelijama (Steinman R.M, Banchereau J, 2007). Tokom faze procesuiranja antigena, dendritske ćelije sazrevaju i diferenciraju se, povećavajući površinsku ekspresiju MHC molekula klase II, CD80 i CD86, koje su kostimulatorne molekule neophodne za aktivaciju T ćelija (Lenahan C, Avigan D, 2006). Različiti citokini produkovani od strane dendritskih ćelija utiču na ishod

posledične aktivacije T ćelija: TNF- α , IFN- γ i IL-12 pokreću Th1 odgovor, dok IL-4, IL-10 i IL-13 promovišu Th2/Treg odgovor (Moser M, Murphy K.M, 2000). Uglavnom pomoću TLR eksprimiranih na njihovoj ćelijskoj površini, dendritske ćelije prepoznaju PAMP koje sadrži *H. pylori* i ulaze u uzajamnu interakciju kojom dolazi do pokretanja kaskada ćelijskih signala, neophodnih za inicijaciju imunološkog odgovora domaćina (Rad R, i sar., 2009; Kabisch R, i sar., 2014).

2.9.3. Adaptivni imuni odgovor

2.9.3.1. Celularni imuni odgovor

Adaptivni imuni odgovor na infekciju sa *H. pylori* razvija se nakon nemogućnosti eliminacije patogena od strane urođenog imunog sistema. Inflamatorna reakcija koja je rezultat infekcije sa *H. pylori* okarakterisana je infiltracijom mukoze različitim ćelijama, kao što su polimorfonuklearni leukociti, T ćelije, makrofagi i plazma ćelije (Aviles-Jimenez F, i sar, 2012). Uzorci gastrične mukoze osoba perzistentno inficiranih sa *H. pylori* pokazali su obimnu infiltraciju različitih tipova leukocita (Dixon M.F, i sar., 1996), sačinjenu pretežno od limfocita (T i B ćelija), monocita, makrofaga, eozinofila, neutrofila, mast ćelija i dendritskih ćelija (Suzuki T, i sar., 2002).

CD4+ (helper) T ćelije igraju ključnu ulogu u specifičnom imunom odgovoru na antigene. Infekcija sa *H. pylori* se odlikuje povećanim brojem gastričnih CD4+ T ćelija (Hatz R.A, i sar., 1996). U zavisnosti od karakteristika citokinog profila, T-helper ćelije su klasifikovane u 2 glavna tipa. Th1 limfociti luče IL-2 i IFN- γ i posreduju u celularnom imunom odgovoru, dok Th2 limfociti proizvode IL-4, IL-5 i IL-10 koji doprinose aktivaciji B limfocita i produkciji antitela, uglavnom mukoznih IgA (Seder R.A, Paul W.E, 1994). Pretpostavlja se da većina antigena indukuju mešavinu ova 2 tipa odgovora (celularnog i humoralnog), ali tokom vremena, neke hronične infekcije karakteriše odgovor koji je dominantno Th1 ili Th2 prirode. Dokazano je da citokini produkovani u ranijim stadijuma infekcije izazivaju specifični celularni odgovor (Garside P, Mowat A, 1995).

Generalno je prihvaćeno da infekcija sa *H. pylori* rezultira sa Th1 dominantnim imunim odgovorom i da je gastrična inflamacija uveliko zavisna od odgovora Th1 ćelija (Eaton K.A, i

sar., 2001). Infekcija sa *H. pylori* rezultira sa Th1 predominantnim imunim odgovorom u gastričnoj mukozi domaćina i indukcijom IFN- γ , a dovodi se u vezu i sa povećanim nivoima proinflamatornih citokina IL-12, IL-18 i TNF- α (Tummala S, i sar., 2004). IL-1 β , snažan proinflamatorni citokin i moćni inhibitor gastrične acidne sekrecije, smatra se odgovornim za inicijaciju i povećanje inflamatornog odgovora kod infekcije sa *H. pylori* (Noach L.A, i sar., 1994), a kod osoba inficiranih sa *H. pylori* povećan je nivo citokina IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 i IL-18 (Lindholm C., i sar., 1998).

Druga vrsta T ćelija koje infiltriraju gastričnu mukozu su takozvane Th17 ćelije, prisutne i tokom infekcija sa *H. pylori* i u inflamiranim područjima prilikom postojanja gastričnog kancera, tako da mogu biti važna veza između inflamacije i karcinogeneze (Pinchuk V.I, i sar., 2013). Th17 ćelije se razlikuju od Th1 i Th2 ćelija po diferencijaciji i funkciji (Park H, i sar., 2005; Harrington L.E, i sar., 2005). Postoje dokazi da infekcija sa *H. pylori* dovodi do generisanja regulatornih T ćelija (Treg) (Harris P.R, i sar., 2008), koje proizvode IL-10 i TGF- β (transforming growth factor- β) (O'Garra A, Vieira P, 2004). Redukovana gastrična inflamacija udružena sa smanjenom akumulacijom neutrofila kod dece inficirane sa *H. pylori* u odnosu na inficirane odrasle osobe, smatra se da je rezultat inhibicije Th17 ćelija i Th1 odgovora izazvanog povećanjem aktivnosti Treg ćelija u gastričnoj mukozi (Serrano C, i sar., 2013). CD4⁺ T ćelije i B ćelije udružene sa dendritskim ćelijama i ponekad organizovani u limfoidne folikule (Terres A.M, Pajares J.M, 1998) ukazuju na postojanje antigene prezentacije i hroničnog inflamatornog odgovora.

2.9.3.2. Humoralni imuni odgovor

Iako Th1 celularni odgovor preovlađuje tokom *H. pylori* infekcije, postoje dokazi da i humoralni imunitet takođe igra određenu ulogu. Gastrični klonovi T limfocita specifični za *H. pylori* pokazuju funkcije zavisne od antigena i potpomažu proliferaciju B-limfocita i sekreciju imunoglobulina (D'Elia M.M, i sar., 1997). *H. pylori* indukuje snažan specifični sistemski i lokalni humoralni odgovor produkcijom antitela na celu bakteriju (Nessa J.H, i sar, 2001) ili na njene delove (membranske proteine, flagelin, ureazu, lipopolisaharide, adhezin Hpa A (Mattsson A, i sar., 1998). Kod gastritisa sa identifikovanim *H. pylori*, dokazani su specifični imunoglobulini A i M (IgA i IgM) (Rathbone B.J, i sar., 1986), kao i povećani broj plazma

ćelija u gastričnoj mukozi koje luče IgA (Mattsson A, i sar., 1998), Stoga, infiltrati plazma ćelija prisutnih u mukozi kod *H. pylori* gastritisa, verovatno predstavljaju lokalni humoralni odgovor organizma. Mukozna IgA služe za inhibiciju unetih antigena, blokadu bakterijske adherencije ili neutralizaciju toksina (Figura N, Crabtree J.E, 1994). IgG se vezuju za *H.pylori*, olakšavaju fagocitozu (Tosi M.F, Czinn S.J, 1990) i dovode do aktivacije komplemента na klasični i alternativni način (Berstad A.E, i sar., 2001).

2.10. Sidnejski sistem za klasifikaciju gastritisa

Otkriće *Helicobacter pylori* od strane Robin Warren i Barry Marshall, 1982. godine (Warren J.R, Marshall B, 1983) potpuno je promenilo koncept etiologije hroničnih gastritisa. *H. pylori* egzistira kod više od 50% svetske populacije i najčešći je uzročnik hroničnih gastritisa širom sveta (Singhal A.V, Sepulveda A.R, 2005).

Sidnejski sistem za klasifikaciju i ocenjivanje gastritisa je kreiran od grupe stručnjaka na devetom Svetskom kongresu gastroenterologa u Sidneju, Australija, 1990 godine, a publikovan 1991. godine u časopisu *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. U njemu se naglašava značaj kombinovanja topografskih, morfoloških i etioloških informacija, koje bi pomogle u postavljanju reproducibilne i klinički korisne dijagnoze (Sipponen P, Price A.B, 2011). Histološka podela prema Sidnejskom sistemu trebala bi da bude praktični putokaz koji pokazuje koja od morfoloških odlika gastritisa u gastričnom uzorku treba biti dokumentovana (Price A.B, 1991). Sidnejskim sistemom ustanovljen je rutinski protokol uzorkovanja, broj i pravilna lokacija uzetih uzoraka i njihovo fiksiranje u adekvatno obeleženim zasebnim kontejnerima (Price A.B, Misiewicz J.J, 1991). Sidnejski sistem zahteva uzorkovanje i histološku procenu 5 različitih lokacija želuca: velika i mala krivina antruma, velika i mala krivina korpusa i *incisura angularis*. Ova šema je idealna u akademskom i komparativnom smislu, ali je komplikovana i iziskuje više vremena. U rutinskoj praksi, dovoljno je koristiti od 1 do 3 fragmenata iz različitih delova želuca i dostaviti ih laboratoriju u zasebnim kontejnerima. Osnovna kritika ovog sistema je da neki od najčešće korišćenih opisnih termina, nisu bili uključeni, kao na primer „multifokalni atrofični gastritis” ili „difuzni antralni gastritis”. Correa P. i Yardley J.H. (1992) su takođe kritikovali ovaj sistem iz razloga što određene vrste gastritisa nedostaju.

Godine 1994. u Hjustonu, stručnjaci su osmislili novi, ažurirani Sidnejski sistem klasifikacije gastritisa (Update Sydney system) koji je objavljen 1997. godine (Dixon M.F, i sar., 1996). Generalno, gastritisi su klasifikovani kao akutni i hronični. Hronični gastritisi su podeljeni na: neutrofične hronične gastritise, obično uzrokovane delovanjem *H. pylori*; atrofične gastritise (autoimuni i multifokalni atrofični gastritisi) čiji uzročnik može biti *H. pylori* ili različiti dijetetski faktori; specijalni oblici gastritisa, kao što su reaktivni (hemijski, refluksni), radijacioni, limfocitni, neinfektivni granulomatozni, eozinofilni, itd (O’Keeffe J, Moran A.P, 2008). Histološki izveštaji gastritisa uzimaju u obzir i topografska obeležja gastritisa (antral ili korpus dominantni), a finalni dijagnostički termin trebao bi biti idealna kombinacija morfologije i etiologije, kako bi se maksimalno povećala vrednost dijagnostike gastričnih uzoraka (Dixon M.F, i sar., 1997). Gradacija hronične inflamacije, aktivnost polimorfonuklearnih neutrofila, prisustvo atrofije, intestinalne metaplazije i denziteta *H. pylori* ocenjuju se kao: blaga, umerena i ozbiljna (Dixon M.F, i sar., 1997). Ažurirani Sidnejski sistem predlaže korišćenje vizuelnih analognih skala, kao referentni standard za ocenjivanje: denziteta *H. pylori* infekcije, akutnih i hroničnih inflamacija, intestinalne metaplazije (Leung W.K, i sar., 2000) i atrofije (Vaananen H, i sar., 2003). Iako se smernice sa Hjustonskog ažuriranog Sidnejskog sistema široko koriste, konsenzusom patologa ispostavilo se da postoji promenljivi nivo njihove doslednosti, posebno u pogledu atrofije (Aydin O, i sar., 2003). U pokušaju da isprave ovaj problem, internacionalna grupa patologa (Atrophy Club 2000) je ponovo razmatrala spektar gastričnih atrofija i intestinalnih metaplazija. Predložena je nova definicija atrofije koja obuhvata kako metaplastične, tako i nemetaplastične kategorije i ustanovljen je novi kriterijum dva glavna fenotipa hroničnih gastritisa: neutrofični i atrofični (Rugge M, i sar., 2002).

Gradacija (stepenovanje) predstavlja meru težine inflamatornih lezija. Iako ostali sistemi gradacije preporučuju odvojeno ocenjivanje mononuklearnih i neutrofilnih infiltrata, ne postoje dokazi da je ovakva distinkcija klinički opravdana. Predloženo je da gradacija treba da predstavlja semikvantitativnu procenu težine kako mononuklearnih tako i granulocitnih inflamacija, prisutnih u uzorcima antralne i oksintične mukoze. Gradusi počinju od 0 (otsustvo inflamatornih ćelija u uzorku) do 4 (veoma gust infiltrat u svim uzorcima). Gradacija se odnosi i na obim atrofije sa ili bez intestinalnih metaplazija. Određene studije ukazuju da je histohemijski fenotip intestinalne metaplazije povezan sa povećanim rizikom od kancera, progresivno od tipa I do tipa III (Wu M.S, i sar., 1998). Promenjena je i rutina uzorkovanja uvođenjem uzimanja

uzorka iz *incisura angularis* i modifikacijom lokacije uzoraka korpusa i antruma (umesto dva uzorka iz suprotnih zidova želuca, preporučuje se uzimanje iz velike i male krivine želuca). Iz razloga što je najveći stepen atrofije i intestinalne metaplazije prisutan upravo u *incisura angularis*, većina patologa je podržala potrebu za uzimanje uzoraka iz ovog područja želuca. Međutim, kasnije prospektivne studije nisu dokazale prednost ovakvog uzorkovanja (Stolte M, Meining A, 2001). Szabo I. i sar. (2012) u svojoj studiji ističu da je intestinalna metaplazija zastupljenija u uzorcima antruma, nego u uzorcima iz *incisura angularis*.

2.10.1. Područja za uzimanje uzoraka

Studije mapiranja višestrukih uzoraka uzetih od individua pozitivnih na *H. pylori*, potvrđuju da pažljivim ispitivanjem četiri vrste uzoraka (dva antralna i dva sa korpusa želuca), postoji velika verovatnoća uspostavljanja objektivnog statusa *H. pylori* (Genta R.M, Hamner H.W, 1994; Bayerdarffer E, i sar., 1998). Uzorci uzeti iz korpusa želuca su od velike važnosti za utvrđivanje oblika (modela) gastritisa, t.j njegovu topografiju i imaju važne implikacije za rizik od bolesti povezanih sa *H. pylori*. Uzorci iz korpusa i antruma su adekvatni za postavljanje statusa *H. pylori*, kao i za određivanje nivoa i distribucije gastritisa, međutim za dokazivanje postojanja eventualno prisutnih atrofija i intestinalnih metaplazija, neophodno je uzimanje dodatnih uzoraka, sa druge lokacije. Maksimalni stepen atrofije i intestinalne metaplazije, nalaze se na *incisura angularis* (Solcia E, i sar., 1993; Sugimura T, i sar., 1994), koja ujedno predstavlja predelekciono područje premalignih displazija (Rugge M, i sar., 1994). Iz ovih razloga, uzorci iz antruma i korpusa želuca moraju biti dopunjeni uzorcima iz *incisura angularis*.

Dixon M.F. i sar. (1996) u ažuriranom Sidnejskim sistemu, daju sledeće preporuke:

1. Za optimalnu procenu, uzima se pet uzoraka, dva sa antruma, 2 – 3 cm prema pilorusu, jedan distalno od male krivine i jedan distalno od velike krivine, dva sa korpusa, oko 8 cm od kardije (jedan sa male, jedan sa velike krivine) i jedan sa *incisura angularis*;
2. Uzorci sa antruma, korpusa i *incisura angularis* moraju biti pojedinačno identifikovani;
3. Prenosjenje informacija patologu o endoskopskom nalazu kod pacijenta, klinička istorija i mesta biopsije, su esencijalni za uspešne kliničko – patološku korelaciju sa gastritisom;

4. Pre nego što se uzorak bioptata proglasi negativnim, neophodno je sprovođenje specijalnog bojenja za *H. pylori*;
5. AB/PAS (alcian blue/periodic acid Schiff) bojenje uveliko olakšava prepoznavanje intestinalnih metaplazija.

Stepen glandularne atrofije i intestinalne metaplazije može biti ocenjen OLGA sistemom (operative link on gastritis assesment system) (Rugge M, Genta R.M, 2005; Rugge M, Genta R.M, 2005a). Ovaj sistem koristi protokol uzorkovanja propisan u Sidnejskom sistemu kao i vizuelnu analognu skalu preporučenu u ažuriranom Sidnejskom sistemu. Paralelno sa OLGA sistemom, razvio se još jedan takozvani Baylor sistem, praćen Baylor protokolom za biopsiju (koristi mesta za biopsiju propisanu Sidnejskim sistemom i još dva dodatna bioptata sa distalnog korpusa), dok je procenjavanje atrofije antruma i korpusa nezavisno (Graham D.Y, i sar., 2006). Poređanje ova dva sistema za ocenu atrofije je još uvek kontraverzno. Iako postoje studije koje pokazuju superiornost Baylor sistema nad OLGA sistemom prilikom procene rizika za gastrični kancer (El-Zimaity H, 2008), evaluacija glandularne atrofije OLGA sistemom je upotrebljivija.

2.10.2. Specijalna bojenja za identifikaciju *H. pylori*

Pored H/E (hematoxylin/eosin) bojenja, većina laboratorija rutinski sprovode i specijalna bojenja za *H. pylori*. Izbor specijalnog bojenja, na primer modifikovano Giemsa bojenje, Warthin–Starry ili Genta bojenje (Genta R.M, i sar., 1994) je stvar izbora, ali se strogo preporučuje u slučajevima kada se H/E bojenjem ne može identifikovati bakterija. Imunobojenje je takođe na raspolaganju za potvrđivanje prisustva *H. pylori* (Cartun R.W, i sar., 1991), a može biti posebno korisno prilikom detekcije kokoidnih oblika bakterije (Chan W.Y, et al., 1994). Iako većina pozitivnih slučajeva mogu biti detektovana kvalitetnim H/E bojenjem, neophodno je pažljivo ispitivanje specijalno obojenih uzoraka, pre nego što se uzorak definitivno proglasi negativnim na *H. pylori*. Za dokazivanje intestinalne metaplazije, mnoge laboratorije rutinski koriste Alcian–Blue (AB, pH 2,5) /PAS bojenje.

2.10.3. Klasifikacija i ocenjivanje gastritisa prema ažuriranom Sidnejskom sistemu

Ažurirana Sidnejska klasifikacija gastritisa (Update Sydney system) je bazirana na etiološkoj, topografskoj i morfološkoj proceni.

I. Etiološka podela gastritisa

- a). *H. pylori* gastritis
- b). Idiopatski gastritisi
- c). Autoimuni gastritisi
- d). Gastritisi izazvani delovanjem lekova ili drugih iritabilnih supstanci
- e) Infektivni gastritisi (osim *H. pylori*)
- f). Specijalni oblici gastritisa
 - Hemijski ili reaktivni gastritis
 - Limfocitni gastritis
 - Granulomatozni gastritis
 - Eozinofilni gastritis
 - Kolagenozni gastritis

II. Topografska podela gastritisa

- a). Gastritisi ograničeni na antrum želuca (antrum – predominantni)
- b). Gastritisi ograničeni na korpus želuca (korpus – predominantni)
- c). Pangastritisi (obuhvataju i antrum i korpus želuca).

III. Morfološka procena gastritisa

Ocenjivanje morfoloških parametara:

1. Hronična inflamacija
2. Aktivnost polimorfonuklearnih neutrofila
3. Glandularna atrofija

4. Intestinalna metaplazija
5. Denzitet (gustina) *H. pylori*

Ostale histološke odlike:

- Oštećenje površinskog epitela
- Deplecija mukusa
- Erozije
- Limfoidni folikuli
- Foveolarna metaplazija
- Pseudopilorična metaplazija
- Pankreatična (acinarna) metaplazija
- Hiperplazija endokrinih ćelija.

U slučajevima kada je poznat etiološki uzročnik gastritisa, isti bi trebao biti dodat kao prefiks (npr. *H. pylori* antralni gastritis, autoimuni korpus gastritis itd). Prilikom identifikacije *H. pylori*, ne treba se tvrditi da je on jedini etiološki faktor za pojavu gastritisa. Oblik gastritisa i njegova povezanost sa određenim oboljenjima reflektuje sudelovanje *H. pylori* sa jednim ili više faktora koja mogu biti dovedeni u korelaciju sa domaćinom (pr. sekretorni status, krvna grupa, imuni odgovor) ili sa okolinom.

Prema originalnoj Sidnejskoj klasifikaciji gastritisa, hronični gastritis može biti atrofični i neutrofični, a svaka od ove dve kategorije obuhvata nekoliko kliničko-patoloških entiteta sa različitim odlikama inflamatornih i epitelijalnih alteracija.

2.10.3.1. Neatrofični hronični gastritisi

Antral–predominantni, neutrofični gastritis – Ovaj oblik gastritisa, koji predstavlja sinonim za hipersekretorni, difuzno antralni ili superficijalni antralni gastritis (Correa P, 1988), je najčešći oblik gastritisa izazvan od strane *H. pylori*. Odlikuje se odsustvom atrofije, umerenom do teškom inflamacijom antruma i nepromenjenim do blago inflamiranim korpusom. Ovakvo stanje je povezano sa normalnom ili povećanom sekrecijom kiseline.

Neatrofični pangastritis – Kod nekih slučajeva inficiranih sa *H. pylori*, inflamacija je distribuirana kroz celi želudac, sa malim ili bez ikakvih razlika između korpusa i antruma. Ovaj oblik je veoma čest u higijenski lošim sredinama, gde je *H. pylori* visoko endemičan, a smatra se i da je pangastritis osnova za razvijanje atrofije (Miehlke S, i sar., 1998). Tokom eksperimentalne infekcije mongolskih gerbila sa *H. pylori*, u prve 4 nedelje inflamacija želuca obuhvata pretežno antrum, a ako infekcija traje više od 30 nedelja gastritis prelazi i na područje korpusa (Crabtree J.E, i sar., 2004). Razvoj gastričnog adenokarcinoma kod ovih vrsta životinja je zapažen prilikom infekcija sa *H. pylori*, dužih od 62 nedelje (Watanabe T, i sar., 1998).

2.10.3.2. Atrofični hronični gastritis

Atrofija gastrične mukoze je definisana kao gubitak karakterističnih žlezda želudačne mukoze (Rugge M, et al., 2002). Gubitak nastaje kada žlezda bude oštećena inflamacijom ili zamenjena, bilo vezivnim tkivom (ožiljak) ili žlezdanim strukturama nesvojstvenim za tu lokaciju (metaplazija). Metaplastičnom transformacijom su uobičajeno obuhvaćene žlezde ograničene intestinalnim tipom epitela (intestinalna metaplazija), ali i žlezde u oksintičnoj mukozi mogu poprimiti oblik mucin–sekretornih antralnih žlezda (pseudopilorična metaplazija). Histološki kriterijum ocenjivanja atrofično–metaplastičnih promena antralne i oksintične mukoze su veoma opširno opisivani (Rugge M, et al., 2002), a kao referentni standard predložena je vizuelna analogna skala (Genta R.M, 1996).

Antrum–predominantni atrofični gastritis – Inflamacija želuca koja je posledica infekcije sa *H. pylori* je antral-predominantna, iako se promene mogu ustanoviti i na mukozi korpusa i kardije. U početku, inflamatorne ćelije su lokalizovane samo superficijalno, u području gastričnih foveola, a *lamina propria* sadrži infiltrat bogat ćelijama karakterističnim za hroničnu inflamaciju, kao što su limfociti i plazma ćelije. Bakterije su u direktnim kontaktom sa površinskim epitelnim ćelijama gastričnih foveola, ali ne i sa želudačnim žlezdama. Oštećenje površinskih ćelija može biti: direktno, uzrokovano oslobađanjem bakterijskih citotoksina (kao što su amonijak i fosfolipaze) i indirektno, stimulacijom produkcije citokina TNF, interferona i interleukina od strane bakterije (Genta R.M, 1997). Ukoliko se atrofični gastritis razvije kao posledica superficijalnog gastritisa izazvanog sa *H. pylori*, inflamacija postaje intenzivnija, prodire u dublje slojeve mukoze i finalno obuhvata celu mukožu. Smatra se da je inflamacija

svih slojeva mukoze rezultat sekundarnog imunološkog odgovora domaćina, koji obuhvata kompleks reakcija koje uključuju aktivni inflamatorni odgovor, aktivaciju T i B limfocita i autoimunitet (Ernst P.B, et al., 1997). U početku žlezde locirane u *lamina propria* mukoze su kompromitovane i razdvojene inflamatornim infiltratom, a na kraju budu potpuno uništene. Prilikom pojave glandularne atrofije, *lamina propria* postaje fibrotična, dok epitel prolazi kroz proces intestinalne metaplazije (Genta R.M, 1997). Brojne diskusije pokušavaju precizno definisati i kvantifikovati atrofiju (Dixon M.F, i sar., 1996; Genta R.M, 1997; Ruiz B, i sar., 2001). Distinkcija između termina atrofičan i neatrofičan od teoretskog je značaja, iz razloga što je prepoznavanje prave atrofije prvi korak sekvencionalnih promena atrofija-metaplazija-displazija-karcinom (Uemura N, i sar., 2001). Genta R.M, (1997) preporučuje da termin atrofični gastritis bude korišćen jedino u slučajevima kada je prisutna intestinalna metaplazija ili postoji morfološki identifikovan gubitak žlezda i njihova zamena unutar *lamina propria* ekstracelularnim matriksom ili fibroblastima. Ovom rigidnom definicijom atrofije isključuju se slučajevi u kojima postoji inflamacija svih slojeva mukoze i u kojima je jedino prisutna separacija žlezda mukoznim infiltratom. Za identifikaciju početnih stadijuma atrofije poželjna je potvrda postojanja fibroze pomoću trihrom bojenja ili upotreba retikulinskih bojenja kojim bi se potvrdio arhitektonski kolaps.

Korpus–predominantni atrofični gastritis – Atrofično–metaplastične promene u oksintičnoj mukozi mogu biti detektovane u odsustvu bilo kakvih atrofičnih promena antralne mukoze. Stanje se smatra patognomoničnim za gastritise autoimune etiologije i dovodi se u vezu sa razvojem gastričnog kancera. Ređe, atrofije autoimune etiologije koje oštećuju uglavnom oksintične ćelije, mogu da koegzistiraju sa antralnom atrofijom, kao rezultat konkurentne infekcije sa *H. pylori*. U ovakvim slučajevima, patogenetski različite atrofične promene, topografski se mogu spojiti jedne sa drugima (korpus–autoimuni i atrofični gastritis izazvan *H. pylori*), a ovo stanje dovodi do povećanja rizika od pojave gastričnog kancera.

Multifokalni atrofični gastritis – Multifokalni atrofični gastritis – MAG (multifocal atrophic gastritis), ranije nazvan i hronični gastritis okruženja (okoline) najviše preovladava kod populacija koje žive u substandardnim sanitarnim uslovima (El-Zimaity H, i sar., 2001), ali postoje i epidemiološki izuzeci (Kimura K, 2000). Atrofični gastritis je faktor rizika za gastričnu neinvazivnu neoplaziju (displaziju) i adenokarcinom intestinalnog tipa (Rugge M, et al., 1995), a predstavlja i predispoziciju za pojavu gastričnog ulkusa (Sipponen P, 1992). Uzorci multifokalnih

atrofičnih gastritisa sadrže žarišta sa atrofično–metaplastičnim promenama kako u antralnoj tako i u mukozi korpusa želuca. Suprotno od antrum–predominantnih atrofičnih gastritisa, multifokalni atrofični gastritis izaziva teže inflamacije oksintične mukoze, a sekrecija kiseline može biti redukovana što ukazuje na napredovanje faze oboljenja. Postoje nepotvrđene hipoteze koje ukazuju da kod hroničnih gastritisa izazvanih sa *H. pylori*, stadijum antrum–predominantne atrofije prethodi multifokalnoj atrofiji.

Atrofični pangastritis – Atrofični pangastritis (atrofija i inflamacija korpusa i antruma) predstavlja uznapređovalu fazu multifokalnog atrofičnog gastritisa. Ovaj oblik gastritisa je prisutan kako kod neinvazivnih, tako i kod invazivnih gastričnih neoplazija (Cassaro M, i sar., 2000).

2.10.3.3. Akutni gastritis

Korišćenje termina „akutni gastritis” bez prethodnih kvalifikacija ne preporučuje se iz razloga što izaziva konfuziju između termina „akutni” i „aktivni”. „Aktivna” inflamacija gastrične mukoze je okarakterisana prisustvom neutrofila u *lamina propria* i/ili u lumenu žlezda. Dixon M.F. i sar. (1996) navode dve glavne kategorije akutnih gastritisa:

- a). Akutni hemoragični ili erozivni gastritis, koji se uobičajeno dovodi u vezu sa hemijskim ili iritabilnim agensima (Laine L, Weinstein W.M, 1988);
- b). Akutni *Helicobacter* gastritis (Rocha G.A, i sar., 1991).
- c). Akutni flegmonozni ili supurativni gastritis je ređi i skoro u svim slučajevima fatalan zbog povezanosti sa septikemijom.

2.10.3.4. Specijalni oblici gastritisa

Hemijski ili reaktivni gastritis - Dijagnostikovanje hemijskog ili reaktivnog gastritisa, indikovano je nalazom foveolarnih hiperplazija, edema i proliferacije glatkih mišića u *lamina propria*, udruženo sa normalnim ili smanjenim brojem hroničnih inflamatornih ćelija (Dixon M.F, i sar., 1996).

Limfocitni gastritis - Kao što samo ime implicira, limfocitni gastritis je okarakterisan prisustvom brojnih maturiranih limfocita infiltriranih u površinski foveolarni epitel (Haot J, i sar., 1989). Histološka slika limfocitnog gastritisa se lako razlikuje od običnog *H. pylori* hroničnog gastritisa. Kod hroničnog *H. pylori* gastritisa nalaze se od četiri do sedam limfocita na 100 epitelnih ćelija, dok kod limfocitnog gastritisa broj limfocita je 10 puta veći (Dixon M.F, i sar., 1988). Haot J. i sar. (1989) dokazuju da se limfocitni gastritis odlikuje prisustvom nodula i erozija lokalizovanih pretežno na gastričnom korpusu, što je suprotno od nespecifičnih gastritisa, koje obično napadaju želudačni antrum i uzrokuju erozije mukoze.

Granulomatozni gastritis - El Demellawy D. i sar. (2009) smatraju da se granulomatozni gastritis veoma retko javlja kao primarni proces, međutim veoma često je sekundarna posledica drugih bolesti. U većini slučajeva, morfološka slika granuloma ne pruža dokaz o uzroku njihovog stvaranja.

Eozinofilni gastritis - Lim K.C. i sar. (2011) smatraju da je eozinofilni gastroenteritis retko inflamatorno stanje gastrointestinalnog trakta, nepoznate etiologije. Značajno povećanje broja eozinofila uobičajeno je prisutno kod parazitarne oboljenja (Ikeda K, i sar., 1989).

Kolagenozni gastritis - okarakterisan je prisustvom debelih slojeva kolagena odmah ispod površinskog epitela gastrične mukoze (Colletti R.B, Trainer T.D, 1989). Suskind D. i sar (2009) navode da je kolagenozni gastritis izuzetno redak gastrointestinalni poremećaj kod dece koji se odlikuje bolovima u abdomenu i teškom anemijom.

Radijacioni gastritis - Gastritis kao rezultat ozračivanja želuca je veoma neuobičajen. Rane promene obuhvataju nekroze fundusnih žlezda, edem i infiltraciju mononuklearnim ćelijama.

2.10.3.5. Infektivni gastritisi

Hronični gastritis izazvan sa *H. pylori*

Hronični gastritis predstavlja inflamatorno stanje želudačne sluzokože okarakterisano elementarnim lezijama čiji je obim i raspored u tesnoj vezi sa njihovom etiologijom i odgovorom domaćina. Najčešći uzrok hroničnog aktivnog gastritisa u svetu je infekcija sa *H. pylori*, dok hemijski agensi i autoimune pojave čine mali procenat hroničnih, obično neaktivnih gastritisa. Hronični gastritis je biološki i epidemiološki povezan sa razvojem gastričnog kancera (Correa P, 1988), a *H. pylori* je od strane WHO (World Health Organization) klasifikovan u karcinogene klase I (Cover T.L, Blaser M.J, 2009). Progresom gastritisa tokom godina, mukoza želuca prolazi kroz sekvencionalne promene koje mogu dovesti do glandularne atrofije, intestinalne metaplazije, povećanog rizika za razvoj gastrične displazije, karcinoma (Uemura N, i sar., 2001) i MALT-limfoma (Parsonnet J, i sar., 1994) koji se u klasifikaciji WHO (Jaffe E.S, i sar., 2001) opisuje kao limfom B-ćelija, ektranodalne, marginalne zone.

Infekcija sa *H. pylori* je u korelaciji sa histološkim karakteristikama aktivnog i hroničnog gastritisa, a inflamatorni infiltrat je uobičajeno okarakterisan povećanjem broja ćelija hronične inflamacije (limfociti i plazma ćelije) u *lamina propria* želudačne mukoze, dok prisustvo polimorfonuklearnih leukocita (neutrofila) ukazuje na njegovu aktivnu komponentu (Bodger K, Crabtree J.E, 1998). Termin „aktivni gastritis” se koristi za stanje akutnog gastritisa, iz razloga što gastritis uzrokovan sa *H. pylori* predstavlja dugogodišnje hronično stanje sa progresivnom aktivnošću. Mogu biti zabeleženi i limfoidni agregati i limfoidni folikuli koji ekspandiraju *lamina propria* mukoze, dok određeni broj limfocita ulaze i u *lamina epithelialis*. Uzročnik *H. pylori* egzistira i u mukusnom sloju koji oblaže apikalni pol površinskih gastričnih epitelnih ćelija, a mali broj bakterija je pronađen i u nižim područjima gastričnih foveola. Gastritis izazvan sa *H. pylori* može manifestovati različite nivoe težine. U patološkom izveštaju, obim aktivnosti *H. pylori* gastritisa se može izražavati kao: blagi gastritis (neutrofili su retko prisutni), umereni gastritis (očigledno prisustvo neutrofila u glandularnom i foveolarnom epitelu) i težak gastritis (brojni neutrofili sa glandularnim mikroabcesima i mukozalnim erozijama i ulceracijama) (Dixon F.M, i sar., 1996; Rugge M, Genta R.M, 2005). Hronični gastritis čiji je uzročnik *H. pylori*, se može manifestovati i kao pangastritis koji uključuje područje želuca od pilorusa, korpusa i

kardije, a postoje slučajevi kada dominantno može biti zahvaćen antrum. Veoma često se kasnije razvija intestinalna metaplazija i glandularna atrofija oksintične mukoze, koja se često dovodi u vezu sa povećanim rizikom za razvoj gastričnog kancera (Correa P, Houghton J, 2007).

Brojne studije potvrđuju da su svinje prijemčiva vrsta domaćina za infekciju sa *H. pylori* (Krakowka S, i sar., 1987; Lambert J.R, i sar., 1987; Eaton K.A, i sar., 1989; Eaton K. A, i sar., 1990; Engstrand L, i sar., 1990). Infekcija barijerno-uzgajanih svinja, koje nisu bile slobodne od svih mikroorganizama („germ-free”), ali su bile slobodne od poznatih, specifičnih patogena, dokazuje se da je *H. pylori* sposoban da kolonizuje želudac svinja, čak i u prisustvu drugih patogena (Engstrand L, i sar., 1990). Pored toga, inficirane gnotobiotske svinje zadržavaju svoj status i pored prelaska na konvencionalni način uzgajanja (Eaton K.A, i sar., 1990). Kako čovek tako i svinje sa perzistentnom infekcijom sa *H. pylori* razvijaju ozbiljan gastritis, međutim karakter inflamacije se bitno razlikuje kod obe vrste. Kod čoveka, zahvaćeni su i antrum i korpus želuca, a jaka neutrofilna komponenta je prisutna čak i kod hroničnih gastritisa. Gastritis svinja, eksperimentalno inficiranih sa *H. pylori* takođe zahvata korpus i antrum želuca, međutim prvenstveno je limfoplazmatičnog karaktera, a prisutno je i formiranje ekstenzivnih limfnih folikula. Krakowka S. i sar. (1987) navode da kod neonatalnih gnotobiotskih prasića inokulisanih sa *Campylobacter pylori*, neutrofilna komponenta inflamatornog infiltrata je prisutna samo prvih nedelju dana posle infekcije, a već druge nedelje dolazi do znatnog povećanja broja mononuklearnih ćelija. Razvoj organizovanih limfoidnih folikula, kod čoveka obično nije često izražen, osim u malom broju slučajeva (Bertram T.A, i sar., 1991). Kod čoveka, intestinalna metaplazija se može razviti u obliku preneoplastičnih lezija. Suprotno tome, infekcija sa *H. pylori* kod svinja, tipično se ne odlikuje intestinalnim metaplazijama. Obe vrste (čovek i svinja) pokazuju oštećenja želudačne sluznice i vakuolaciju epitelnih ćelija želuca (Bertram T.A, i sar., 1991). Frekvencija pojave gastričnih ulkusa prilikom *H. pylori* infekcije svinja se teško procenjuje, iz razloga što se kod ove vrste spontani gastični ulkusi uobičajeno dešavaju. Međutim spontani gastrični ulkusi kod svinja uobičajeno zahvataju deo želuca u kojem nisu prisutne žlezde, tzv. *pars oesophagea*. Suprotno tome, *H. pylori* se dovodi u vezi sa erozijama epitela antruma želuca kod inficiranih svinja (Krakowka S, i sar., 1995). Gastrični kancer nije prijavljen kod modela svinje, verovatno zbog ograničenog vremena uzgajanja, što nije dovoljno za njegov razvoj.

Fungalni gastritis - Fungalne hife koje kolonizuju želudac svinja oštećuju tkivne kapilare što rezultira pojavom tromboze. Fungalni agensi su najčešće zigomicete, kao *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor* species, dok je vrsta *Aspergillus* retko prisutna (Mahanta S, Chaudhury B, 1985).

Parazitarni gastritisi - Parazitarni gastritisi su vrlo retka pojava na komercijalnim farmama za uzgoj svinja. Od parazita koja mogu izazvati gastritis najvažniji je *Hyostrogylus rubidus*, koji se smatra jednim od uzroka slabog prirasta i smanjene kondicije svinja. Ostali paraziti koji izazivaju blagi stepen gastritisa pripadaju vrstama *Ascarops*, *Simondsia* i *Physocephalus*.

2.10.3.6. Ocenjivanje morfoloških varijabli

Kako bi se patohistološka zapažanja prevela na jasno definisani topografski način ili uzajamno upoređivala, veoma je poželjno pojedinačno ocenjivanje svake relevantne karakteristike (Sipponen P, Price A.B, 2011). Na Hjustonskom sastanku, u cilju poboljšanja usaglašenosti različitih posmatrača, tekstualno objašnjenje koncepta blage, umerene i teške inflamacije je bilo svedeno na minimum. Aydin O. i sar. (2003) tvrde da vizuelna analogna skala pomaže prilikom ocenjivanja. Studije koje koriste rane verzije vizuelnih analognih skala, pokazuju iznimnu usaglašenost između posmatrača kad je reč o denzitetu *H. pylori*, umerenu saglasnost o intenzitetu aktivne inflamacije i vrlo malu saglasnost oko stepena atrofije (El-Zimaity H.M, et al., 1996). Chen X.Y. i sar. (1999) navode da ocenjivanje morfoloških varijabli je korisno za evaluaciju gastritisa izazvanih sa *H. pylori* i njihovih sličnih oblika (neatrofični i atrofični gastritis).

1. Denzitet (gustina) *H. pylori*

Dixon M.F. i sar. (1996) navode da za je potrebe kliničkog menadžmenta, najvažnija informacija o postojanju *H. pylori*. Varijacija denziteta *H. pylori* ima epidemiološki značaj (Stolte M, i sar., 1995). Postojala je određena nesigurnost kod ocenjivača oko ocene denziteta: da li se ocenjivanje denziteta bakterije treba obavljati samo na gastričnom epitelu (pri tom ignorišući postojanje metaplazije) ili je potrebno računati prosek denziteta po dužini čitavog

uzorka. Ažurirani Sidnejski sistem klasifikacije ograničava evaluaciju bakterijskog denziteta u područjima u kojima *H. pylori* normalno egzistira.

2. Aktivnost polimorfonuklearnih neutrofila

Uprkos problemima prilikom tumačenja pojma „aktivnost”, ustanovljeno je da se isti koristi prilikom ocenjivanja težine aktivnih hroničnih gastritisa. U ovom kontekstu, pojam daje koristan zapis o „prisustvu polimorfonuklearnih neutrofila u pozadini hronične inflamacije”. Kao takav, isti pretstavlja merilo kontinuirane akutne inflamacije, a obzirom na ulogu ROS-a koji su proizvod neutrofila i proteaza (Davies G.R, i sar., 1994), neutrofilna aktivnost se dovodi u vezu i sa oštećenjem tkiva. Hronična inflamacija bez prisustva polimorfonuklearnih neutrofila, je takođe „aktivna”, obzirom da citotoksični T- limfociti i ostali ćelijski efektori takođe izazivaju oštećenje tkiva i sudeluju u destrukciji žlezda kod određenih oblika gastritisa. Neutrofilu su senzitivni indikator prisustva ili odsustva *H. pylori*, a nestaju nekoliko dana nakon tretiranja infekcije. U slučaju prisustva polimorfonuklearnih neutrofila u uzorku uzetom nakon tretmana infekcije, neophodno je sprovesti specijalna bojenja ili imunobojenja u cilju dokazivanja *H. pylori* (Graham D.Y, Genta R.M, 1994).

3. Hronična inflamacija

Dixon M.F. i sar. (1996) ističu da u *lamina propria* normalne gastrične mukoze, egzistiraju samo pojedinačno razbacane ćelije karakteristične za hroničnu inflamaciju (mononuklearne ćelije). Prema tome, svako povećanje broja mononuklearnih ćelija, ukazuje na hronični gastritis. Kod infekcije sa *H. pylori*, celularni infiltrat sadrži efektore imunološkog odgovora, kao što su: CD4+ i CD8+ T-limfociti, B-limfociti, plazma ćelije, mastocyte i eozinofile. U *lamina propria* gastrične mukoze, uvek je prisutan određeni broj mononuklearnih leukocita, međutim precizna definicija hronične inflamacije je otežana nedostatkom univerzalnog standarda za kvantifikaciju mononuklearnih inflamatornih ćelija u normalnoj sluzokoži želuca. Uprkos ovakvim ograničenjima, normalni broj mononuklearnih ćelija u lamina propria gastrične mukoze je maksimum od 2 do 5 limfocita, plazma ćelija i makrofaga na mikroskopskom polju (40X) od 2 do 3 limfocita ili plazma ćelija između foveola (područje u kome se ćelije kod

hroničnih inflamacija najčešće nalaze). Pojmovi „superficialni” i „difuzni” koriste se u cilju opisivanja distribucije inflamatornih ćelija u gastričnim uzorcima. Termin „superficialni gastritis” se odnosi na distribuciju ćelija hroničnog inflamatornog infiltrata (limfociti i plazma ćelije) na površini *lamina propria* mukoze, uobičajeno u području gastričnih foveola ili vrata gastričnih žlezda. Prilikom postojanja difuznog gastritisa, gusti infiltrat limfocita i plazma ćelija je pozicioniran na svim nivoima *lamina propria* mukoze, istu proširuju i vrše separaciju gastričnih žlezda, dajući lažni dojam redukcije gastričnih žlezda i glandularne atrofije. U želucu zdravih individua, plazma ćelije su retko prisutne ili potpuno odsutne tako da je njihovo prisustvo izuzetno važan indikator hroničnog inflamatornog odgovora.

4. Glandularna atrofija

Rugge M. i sar. (2002) definišu glandularnu atrofiju kao gubitak žlezdanog tkiva. Atrofija dovodi do ozbiljnog oštećenja mukoze i njenog stanjivanja, a zajednički je imenitelj svih patoloških procesa. Gubitak žlezda može biti praćen erozijama ili ulceracijama sluznice sa oštećenjem žlezda, fibroznom zamenom glandularnog tkiva, propadanjem postojećeg matriksa ili može biti rezultat prolongirane inflamacije, gde su pojedine žlezde podvrgnute destruktiji. Prepoznavanje manjih stepena atrofije je otežano zbog velikih količina vezivnog tkiva, uobičajeno prisutnog u ovim područjima, kao i zbog nepravilne distribucije žlezda i žlezdanih jama. Korisni način procene antralne atrofije je dokaz da su 3–4 žlezde u preseku, koje se normalno protežu kroz antralnu sluznicu, redukovane na dve ili manje duž preseka. El-Zimaity i sar. (2002) ističu da zamena antralnog epitela intestinalnom metaplazijom, nadopunjuje mikroskopski nalaz atrofije i može biti korisni indikator postojanja atrofije, dok metaplazija sama po sebi može biti zaseban proces.

5. Intestinalna metaplazija

Prema navodima Ozoran Y. i sar. (1992), intestinalna metaplazija je zajednička za sve gastritise različite etiologije, a učestalost se povećava srazmerno trajanju bolesti. Metaplastični epitel može biti morfološki prepoznat prisustvom peharastih (goblet) ćelija, apsorptivnih ćelija ili ćelija koje podsećaju na kolonocite, kao i po enzimima ili sadržaju mucina. Intestinalna

metaplazija može biti kategorisana na bazi morfologije i enzimatske histochemije na intestinalni i kolonični tip, t.j. kompletnih i nekompletnih oblika, a koristeći histochemiju mucina, na 3 glavne vrste zavisno od morfologije i sadržaja glikoproteina (Filipe M.I. i sar., 1994). Acidni glikoproteini u metaplastičnim ćelijama se najbolje prikazuju AB/PAS specijalnom tehnikom bojenja, na pH 2.5, pri čemu se boje plavo ili ljubičasto, za razliku od Schiff–pozitivnih neutralnih mucina, prisutnih na površinskom i epitelu foveola, kao i u mukoznim žlezdama nemetaplastične gastrične mukoze. Kod intestinalne metaplazije tipa I, peharaste ćelije sadrže sijalomucin, utisnute su između nesekretorne apsorptivne ćelije i pokazuju vidljivo naglašene četkaste granice. Kod tipa II, goblet ćelije koje sadrže sijalomucin, nalaze se razbacane između ćelija gastričnog tipa koje sadrže ili neutralne mucine ili sijalomucin. Tip III karakterišu se izduvanim ili razgranutim kriptama poredanim na visoko cilindričnim ćelijama, a sadrže obimne sulfomucine i manji broj peharastih ćelija sa sijalomucinima ili sulfomucinima. Kompletna (tip I) metaplazija nosi manji rizik za razvoj gastričnog kancera, dok oblici metaplazije povezani sa većim intestinalnim karakteristikama (tip III metaplazija ili nekompletni oblici) su bliže i tesnije povezani sa kancerom (Tosi P. i sar., 1993).

Preporuke date od strane Dixon F.M. i sar. (1996):

- a). Kod svih slučajeva gastritisa, treba pažljivo notifikirati: prisustvo ili odsustvo *H. pylori*, hronične inflamacije, glandularne atrofije i intestinalne metaplazije;
- b). Ako su ustanovljeni, svaka od ovih varijabla može biti ocenjena kao blaga, umerena ili izražena, na skali navedenoj u smernicama.

Ostale histološke odlike

1. Oštećenje površinskog epitela, deplecija (trošenje) mukusa i erozije

Neutrofilna, polimorfonuklearna inflamacija je obično praćena oštećenjem epitela i paralelnim „aktivnostima” (Fiocca R. et al., 1994). Stoga, ocenjivanje epitelne degeneracije nije neophodno za rutinsku praksu, dok prisustvo erozije obavezno treba da bude zabeleženo (Stolte M, Eidt S, 1992). Maciorkowska E. i sar. (2003) sugerišu da prilikom rukovanja i procesuiranja tkiva dolazi do odvajanja nekih delova površinskog epitela, tako da patolozi trebaju biti oprezni prilikom razlikovanja ovakvih artefakata od pravih erozivnih promena, kod kojih je karakteristično taloženje fibrina, infiltracija neutrofila i regenerativne promene susednog epitela.

2. Limfoidni folikuli

Iako se veliki limfoidni folikuli smatraju odlikom *H. pylori* infekcije i kod ljudi i kod životinja, mišljenje o hiperplaziji gastričnog MALT-a se razlikuje. Kod čoveka, normalna gastrična mukoza ne sadrži organizovana limfoidna tkiva, a istraživači su ukazali na povezanost *H. pylori* infekcije i akumulacije MALT-a (Wotherspoon A.C, 1998). Limfoidni agregati sa germinativnim centrom su karakteristični za hronični gastritis koji je rezultat infekcije sa *H. pylori* i prisutni su u 100% slučajeva pozitivnih na *H. pylori*, pa stoga predstavljaju obeležje ove dijagnoze (Stolte M, Eidt S, 1989; Genta R.M, i sar., 1993). Međutim, normalne adultne krmače izložene na okolinu bogatu mikroorganizmima, poseduju veoma dobro razvijeni gastrični MALT (Green W.B, i sar., 1997).

3. Foveolarna hiperplazija

Stanje okarakterisano povećanjem dužine i izvijenosti foveola u kombinaciji sa ekstenzijom proliferativnih delova i povećanim nukleusom u odnosu na citoplazmu siromašnu mucinima, prepoznato je od strane Dixon M.F. i sar. (1996). Javlja se kao rezultat kompenzatornog odgovora na povećanu ćelijsku eksfolijaciju na površini ili kao odgovor na stimulaciju citokina i ostale inflamatorne medijatore, kao što je TGF – α (Dempsey P.J, i sar., 1992).

4. Pseudopilorična metaplazija

Distinkcija između pseudopiloričnih i pravih antralnih žlezda u bioptatu, može biti od ogromnog značaja za pravilnu lokalizaciju i klasifikaciju atrofičnih gastritisa. Pseudopilorične žlezde se razlikuju od piloričnih „antralnih” žlezda, po tome što endokrine ćelije koje se dovode u korelaciju sa metaplastičnim žlezdama, ne uključuju G ćelije (ćelije koje se imunoboje za gastrin), a uobičajeno su prisutne kod antralnih žlezda. Pseudopilorične žlezde poseduju oba tipa pepsinogena I i II, dok antralne žlezde poseduju samo pepsinogen I, sadrže ćelije nalik enterohromafinim ćelijama, koje su normalno prisutne u oksintičnoj, ali ne i u antralnoj mukozi (Solcia E, i sar., 1990).

5. Pankreatična (acinarna) metaplazija

Wang H.H. i sar. (1996) i Dixon M.F. i sar. (1988) su dokazali da su kod 1 – 2% gastričnih uzoraka prisutne ćelije slične pankreatičnim (acinarnim), koje se odlikuju obilnom citoplazmom, acidofilnim granulama u apikalnom i srednjem delu i bazofilnim granulama u bazalnom delu, raspoređenim u lobulima između gastričnih žlezda. Postojanje pankreatične metaplazije je povezano sa intestinalnom metaplazijom i hroničnim gastritisom. Mogoantaa L. i sar. (2010) dokazuju da pankreatična metaplazija gastrične mukoze može biti lokalizovana na područje antruma, a može se javiti i kod ulkusa duodenuma.

6. Hiperplazija endokrinih ćelija

Dixon M.F. i sar. (1996) su dokazali da se hiperplazija endokrinih ćelija dešava uglavnom kao posledica funkcionalnih promena kod hroničnih gastritisa. Iako se kod teških atrofičnih gastritisa, hiperplazija ECL ćelija (enterochromaffin-like cells) često detektuje kod uzoraka obojenih H/E, preciznija definicija hiperplazije zavisi od upotrebe specijalnih bojenja sa argirofilijom (pr. grimelius) ili imunobojenja sa hromograninom (Dixon M.F. i sar. 1996). Hiperplazija endokrinih ćelija se tipično prikazuje kao široko rasprostranjeni lanac argirofilnih ćelija (linearna hiperplazija) u okviru epitela oksintičnih žlezda ili u njihovim atrofičnim ili metaplastičnim zamenama.

3. CILJEVI I ZADACI DISERTACIJE

Početkom 1980. godine ustanovljena je povezanost između postojanja *Helicobacter spp.* i pojave hroničnih gastritisa i gastričnih ulceracija. Izolati humanih sojeva *H. pylori* se ne mogu smatrati uzročnikom prirodne, već samo eksperimentalne infekcije kod svinja. Krakowka S. i sar. (2005) su prvi put uspjeli izolovati 2 vrste ureaza i katalaza pozitivnih, mikroaerofilnih, malih, zakrivljenih bakterija iz želuca konvencionalno uzgojenih prasadi. Oba izolata su morfološki veoma slična sa *H. pylori* izolovanom od čoveka, ali su morfološki različiti od spiralnog *H. heilmannii*. *H. heilmannii* je vrlo česti stanovnik sluznice želuca svinja i poseduje zoonotski potencijal. Kako je jasno naglašena potreba uvođenja pogodnih životinja za proučavanje patogeneze infekcije sa *Helicobacter spp.*, uočavanje histoloških odlika uzoraka različitih delova sluzokože želuca kao i ocenjivanje parametara kojima bi se utvrdio stepen inflamacije i karakter inflamatornog infiltrata, svinje mogu biti koristan animalni model. Pošto postoji veoma ograničen broj informacija o postojanju bakterijskog gastritisa kod svinja ispitivanje histoloških promena mukoze želuca svinja iz intenzivnog i ekstenzivnog uzgoja daće korisne informacije koje mogu unaprediti ishranu, negu i zdravstveno stanje svinja.

S obzirom na cilj istraživanja, postavljeni su sledeći zadaci:

1. Dokazivanje i identifikacija bakterija vrste *Helicobacter* različite morfologije: HLO (*Helicobacter-like organisms*) i GLO (*Gastrospirillum-like organisms*) i njihova semikvantitativna evaluacija;
2. Utvrđivanje postojanja hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način, procenom patoloških promena prisutnih u mukozi želuca;
3. Otvrdjivanje udela *Helicobacter* speciesa u etiologiji gastritisa;
4. Primenom Sidnejske klasifikacije gastritisa na svinje i histološkim ispitivanjem preparata želuca oceniti: stepen inflamacije, karakter inflamatornog infiltrata (prisustvo polimorfonuklearnih i mononuklearnih inflamatornih ćelija), glandularnu atrofiju, intestinalnu metaplaziju;

5. Komparacija histoloških promena mukoze želuca *Helicobacter spp* (HLO i GLO) pozitivnih gastritisa (specifičnih) i *Helicobacter spp* negativnih (nespecifičnih) gastritisa, čime bi se dokazao efekat delovanja bakterija *Helicobacter spp*.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Odabir i poreklo svinja iz intenzivnog i ekstenzivnog načina uzgoja

Ispitivanje je obavljeno na želucima 120 svinja, od kojih 60 je svinja poreklom iz intenzivnog načina uzgoja a 60 iz ekstenzivnog. Svinje su pripadale rasi danski landras, muškog i ženskog pola, prosečne težine od 80–110 kg i prosečne starosti od 6-7 meseci. Svinje uzgajane na intenzivni način potiču iz farmskih uzgajivačnica „Jedinstvo” s. Čelopek i „Džesi” s. Bratindol, Republika Makedonija, dok svinje uzgajane na ekstenzivni način potiču iz različitih seoskih domaćinstava koja gravitiraju regionu Bitolja, R Makedonija. Svi želuci na kojima je obavljeno ispitivanje su uzeti na liniji klanja, neposredno nakon klanja. Uzorci su transportovani na temperaturi od 4°C i procesuirani u roku od 3 sata nakon uzimanja.

4.2 Priprema želuca za uzorkovanje i način uzimanja uzoraka

Svaki želudac je otvoren duž velike krivine od divertikuluma do piloričnog sfinktera i odstranjen je želudačni sadržaj. Nakon toga želuci su pažljivo oprani tekućom vodom, vodeći računa da se odstrane samo čestice hrane a da se pri tom ne ošteti sluznica niti sloj sluzi koji prekriva želudac.

4.2.1. Postupak uzimanja gastričnog otiska i metod bojenja preparata Löffler metilenskim plavim

Gastrični otisak kao metod uzorkovanja je veoma često korišćen, iz sledećih razloga: ne prolongira vreme koje je potrebno za izvođenje ispitivanja, ne povećava cenu istraživanja jer ne zahteva opremu različitu od uobičajene i nema specifičnosti u uzorkovanju. Predmetna stakla koja se koriste prilikom uzimanja gastričnog otiska ne oštećuju uzorak, tako da se isti uzorak nadalje može proslediti za izvođenje ostalih metoda histološkog istraživanja. Metoda gastričnog

otiska poseduje senzitivnost i specifičnost jednaku histološkim metodama, tako da se isti smatra zlatnim standardom u dijagnostici *Helicobacter speciesa*.

Uzimanje gastričnog otiska se obavlja na sledeći način: Čisto, suvo i adekvatno obeleženo mikroskopsko predmetno staklo se nežno utisne na mukoznu površinu želuca. Dobijeni otisak se suši na sobnoj temperaturi, nakon čega se fiksira toplotom, provlačenjem stakla 2-3 puta kroz plamenik. Pripremljeni otisci želuca se boje metilenskim plavom (Methylene blue, Merck).

Procedura bojenja metilenskim plavom: Staklo sa gastričnim otiskom se postavlja na stalak za bojenje u vodoravni položaj i prelije 1% metilenskim plavom, kako bi se dobio sloj boje sa približno istom debljinom. Ostavlja se da boja deluje oko 1 minut i 30 sekundi. Višak boje se odliva i gastrični otisak se ispira destilovanom vodom. Nakon toga, obojeni preparat se suši na sobnoj temperaturi. Mikroskopsko staklo sa gastričnim otiskom se postavlja za mikroskopiranje, fokusira se željeno područje i direktno se nanosi kap imerzionog ulja. Preparat se mikroskopira pod imerzionim objektivom, uvećanje 1000 X. Na preparat pripremljen na ovakav način, ne nanosi se pokrovna ljušpica.

Rezultat bojenja: Bakterije u preparatu se boje tamno plavo, dok tkivni elementi (ćelije) boje u nijansama plave boje.

Svrha izrade gastričnog otiska je pored identifikacije 2 vrste bakterija različite morfologije HLO (u obliku zareza) i GLO (sa više spiralnih zavoja) i semikvantitativna evaluacija bakterijskog denziteta (Misra V, et al., 1994):

0 – odsustvo bakterija

1 – sporadično prisustvo bakterija, samo u nekim od vidnih polja

2 – mali broj bakterija (2-3) u svakom od ispitivanih vidnih polja

3 – veliki broj bakterija (više od 10) u većini ispitivanih polja

Broj otisaka uzetih na opisani način iznosi 120 (po 60 iz želuca svinja uzgajanih na intenzivni i na ekstenzivni način).

Uzimanje gastričnih otiska i njihovo bojenje je obavljeno na Veterinarskom fakultetu – Bitolj, R. Makedonija.

4.2.2 Preparacija želudačne mukoze, uzimanje uzorka iz *pars oesophagea*, *pars fundica* i *pars pylorica* želuca i bojenje hematoksilin eozinom i modifikovanom Giemsa metodom

Nakon uzimanja gastričnog otiska, pristupa se preparaciji želudačne mukoze t.j njenoj separaciji od ostalih tunika želuca. Separacija želudačne mukoze se izvodi tupom preparacijom pomoću skalpela, nakon čega se pristupa uzimanju uzorka iz 3 različita regiona želuca: *pars oesophagea*, *pars fundica*, *pars pylorica*. Uzeti uzorci su dimenzije 2cm x 2cm, odlažu se u posebnim, adekvatno obeleženim kontejnerima i fiksiraju u 10% formalinu, 12-48 sati. Nakon toga, tkivo je tretirano u automatskom tkivnom procesoru (Shandon Citadel 1000 tissue processor) pri čemu je izvršena dehidracija i impregnacija tkiva u parafinu. Nakon kalupljenja u parafinu, tkivo je uz pomoć mikrotoma (Leica) sečeno na rezove debljine 5 µm. Parafinski isecci *pars oesophagea*, *pars fundica*, *pars pylorica* su bojeni hematoksilin eozinom (Mayer's hemalum solution, Merck), a duplikati *pars fundica* su bojeni i modifikovanom Giemsom (Giemsa's Solution, Merck).

Procedura bojenja hematoksilin eozinom (H/E):

1. Deparafinizacija isečka kroz 2 serije ksilena, svaka u trajanju od 5-10 minuta;
2. Rehidracija, kroz serije alkohola opadajućih koncentracija (100%, 96%, 70%):
 - 2 x 100% etanol, 2-5 min
 - 2 x 96% etanol , 2-5 min
 - 1 x 70 % etanol, 2-5 min
3. Ispiranje u tekućom ili destilovanom vodom;
4. Bojenje hematoksilinom (Mayer's hemalum solution), 3-5 minuta;
5. Ispiranje tekućom vodom oko 5 minuta;
6. Tretman 1% kiselim alkoholom, 30 sekundi;
7. Ispiranje tekućom vodom oko 1 minut;
8. Bojenje 0.5 % Y - eozinom, 10 minuta;
9. Ispiranje tekućom vodom oko 30 sekundi;
10. Dehidracija isečaka kroz seriju rastućih koncentracija alkohola
 - 70% etanol (kratko)
 - 2 x 96% etanol 1 min

- 2 x 100% etanol 2-5 min

11. Pročišćavanje i prosvetljivanje kroz 2 serije ksilena, svaka u trajanju od 2-5 minuta;

12. Nanošenje pokrovnog mediuma (Neo-mount) i prekrvanje pokrovnim ljusticama.

Rezultat bojenja: jedra ćelija se boje tamno plavo, a citoplazma ružičasto – crveno.

Svrha izrade preparata obojenih hematoksilin eozinom je histološko ispitivanje kojim se utvrđuje karakter inflamatornog infiltrata i ocenjivanje stepena hroničnog gastritisa prema Park J.H. et al. (2000):

0 – odsustvo infiltrata inflamatornih ćelija;

1 – blaga infiltracija limfocita, plazma ćelija i nekoliko eozinofila;

2 – umereno gusta infiltracija limfocita, plazma ćelija, ali bez limfnih folikula;

3 - umereno gusta infiltracija limfocita, plazma ćelija, uz prisustvo limfnih folikula;

4 – veoma gusta infiltracija limfocita, plazma ćelija, uz prisustvo limfnih folikula;

Broj uzoraka uzetih na opisani način i obojenih hematoksilin eozinom iznosi 360 (po 180 iz želuca svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način).

Duplikati *pars fundica* su obojeni modifikovanom Giemsa metodom (Giemsa's Solution, Merck).

Procedura bojenja modifikovanom Giemsom:

1. Deparafinizovanje isečka kroz 2 serije ksilena, svaka u trajanju od 5-10 minuta;

2. Rehidracija, kroz serija alkohola opadajućih koncentracija (100%, 96%, 70%):

- 2 x 100% etanol, 2-5 min
- 2 x 96% etanol 2-5 min
- 1 x 70 % etanol 2-5 min

3. Ispiranje tekućom ili destilovanom vodom 10 sekundi;

4. Bojenje Giemsom (Giemsa's Solution), 10 – 15 minuta;

5. Ispiranje tekućom vodom oko 10 sekundi;
6. Dehidracija isečka kroz seriju rastućih koncentracija alkohola
 - 70% etanol, 10 sekundi
 - 2 x 96% etanol, 10 sekundi
 - 2 x 100% etanol, 10 sekundi
7. Pročišćavanje i prosvetljavanje preparata kroz 2 serije ksilena, svaka u trajanju od 5 minuta;
8. Nanošenje pokrovnog mediuma (Neo-mount) i prekrivanje pokrovnom ljupticom.

Svrha izrade preparata *pars fundica* obojenih modifikovanom Giemsa je identifikacija bakterija različite morfologije.

Broj duplikata *pars fundica* obojenih modifikovanom Giemsa iznosi 120 (po 60 iz *pars fundica* želuca svinja uzgajanih na intenzivni način i ekstenzivni način).

Uzorkovanje želudaca i njihova fiksacija su obavljani na Veterinarskom fakultetu - Bitolj, dok je procesuiranje tkiva i bojenje preparata urađeno na odeljenju za Patologiju i citologiju u sklopu Kliničkog centra „Dr. Trifun Panovski” – Bitolj, R. Makedonija.

Izrada mikrofotografija reprezentativnih preparata je obavljena binokularnim mikroskopom Olympus CX31RBSF (Tokyo, Japan, Artray ARTCAM, 300MI).

Rezultati ispitivanja su obrađeni deskriptivnim statističkim metodama (procenat, srednja vrednost, standardna devijacija). Za komparaciju histoloških promena i dokazivanje značajnosti razlike *Helicobacter* spp (HLO i GLO) pozitivnih t.j specifičnih i *Helicobacter* spp negativnih tj. nespecifičnih gastritisa primenjen je Studentov t-test.

5. REZULTATI

5.1. Prevalenca bakterija *Helicobacter spp* i bakterija HLO i GLO morfologije kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način

Od ukupno 60 ispitanih svinja uzgajanih na intenzivni način, prisustvo bakterija *Helicobacter* speciesa je utvrđeno kod 9 t.j 15% (9/60). Od njih, sudeći prema morfološkim karakteristikama, 6.67% (4/60) pripadaju HLO (*Helicobacter* like organisms) koji su zakrivljeni sa 1-2 zavoja, dok 8.33% (5/60) pripadaju GLO (*Gastrospirillum* like organisms) koji su spiralni, sa više navoja (tabela 1).

Tabela 1. Prevalenca *Helicobacter spp.* kod svinja uzgajanih na intenzivni način

Vrsta bakterije	Broj svinja uzgajanih na intenzivni način	Procenat inficiranih svinja uzgajanih na intenzivni način (%)
<i>Helicobacter spp.</i> (HLO/GLO)	9	15
HLO (<i>Helicobacter</i> like organisms)	4	6.67
GLO (<i>Gastrospirillum</i> like organisms)	5	8.33
Ukupno	60	100

Od ukupno 60 ispitanih svinja uzgajanih na ekstenzivni način, prisustvo bakterija *Helicobacter* speciesa je utvrđeno kod 14 t.j 23.33% (14/60). Od njih, sudeći prema morfološkim karakteristikama, 8.33% (5/60) pripadaju HLO (*Helicobacter* like organisms) koji su zakrivljeni sa 1-2 zavoja, dok 15% (9/60) pripadaju GLO (*Gastrospirillum* like organisms) koji su spiralni, sa više navoja (tabela 2).

Tabela 2. Prevalenca *Helicobacter* spp. kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način

Vrsta bakterije	Broj svinja uzgajanih na ekstenzivni način	Procenat inficiranih svinja uzgajanih na ekstenzivni način (%)
<i>Helicobacter</i> spp. (HLO/GLO)	14	23.33
HLO (<i>Helicobacter</i> like organisms)	5	8.33
GLO(<i>Gastrospirillum</i> like organisms)	9	15
Ukupno	60	100

5.2. Morfološka identifikacija i semikvantitativna evaluacija bakterija *Helicobacter* spp.

a) Morfološka identifikacija i semikvantitativna evaluacija bakterija HLO morfologije u otisku želuca svinja

Prilikom semikvantitativne evaluacije „HLO” (*Helicobacter* like organisms) kod svinja uzgajanih na intenzivni način, došli smo do zaključka da od 60 svinja, kod 4 su potvrđeni HLO od kojih: kod 1 je bio prisutan HLO +++, kod 2 HLO ++, a kod 1 svinje HLO + (tabela 3).

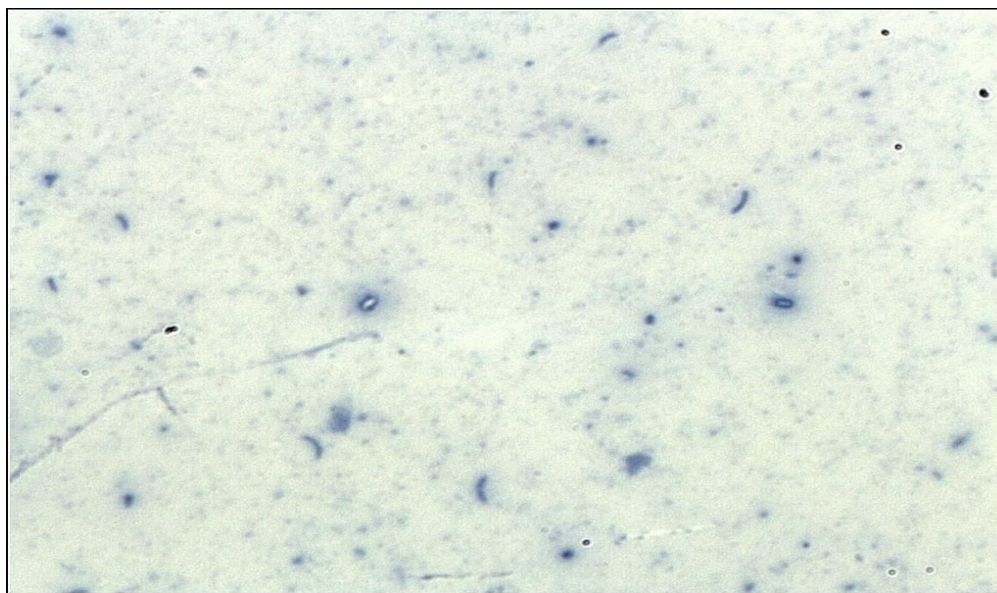
Tabela 3. Semikvantitativna evaluacija „HLO” (*Helicobacter* like organisms) kod svinja uzgajanih na intenzivni način

Semikvantitativna evaluacija „HLO” (<i>Helicobacter</i> like organisms)	Broj svinja uzgajanih na intenzivni način
0	56
+	1
++	2
+++	1
Ukupno	60

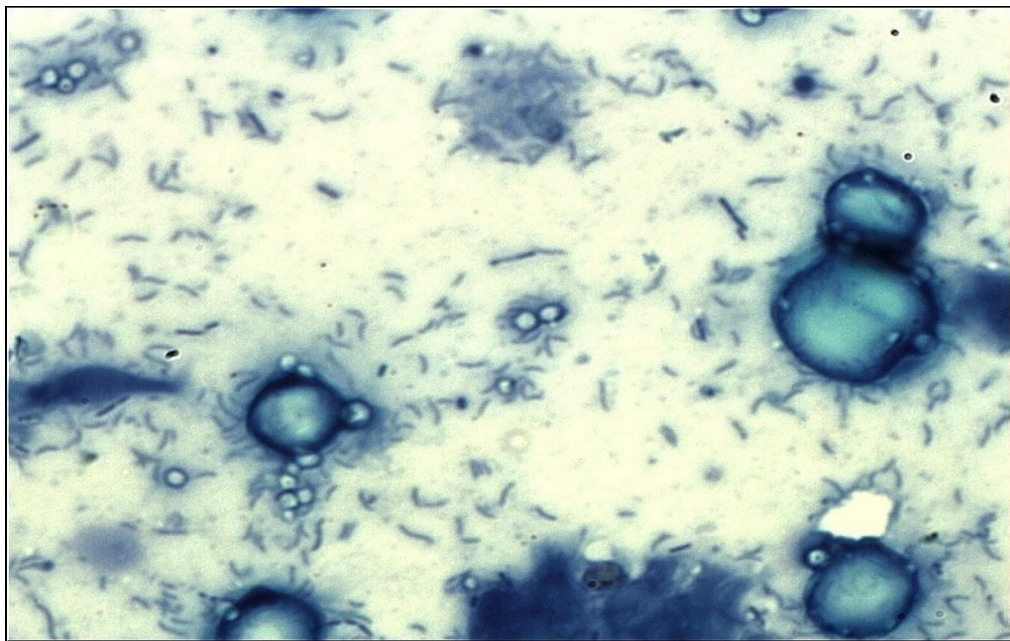
Prilikom semikvantitativne evaluacije „HLO” (*Helicobacter like organisms*) kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način, došli smo do zaključka da od 60 svinja, kod 5 su potvrđene HLO bakterije, od kojih: kod 2 je bio prisutan HLO +++, kod 2 HLO ++, a kod 1 svinje HLO + (tabela 4, slike 1, 2, 3, 4, 5).

*Tabela 4. Semikvantitativna evaluacija „HLO” (*Helicobacter like organisms*) kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način*

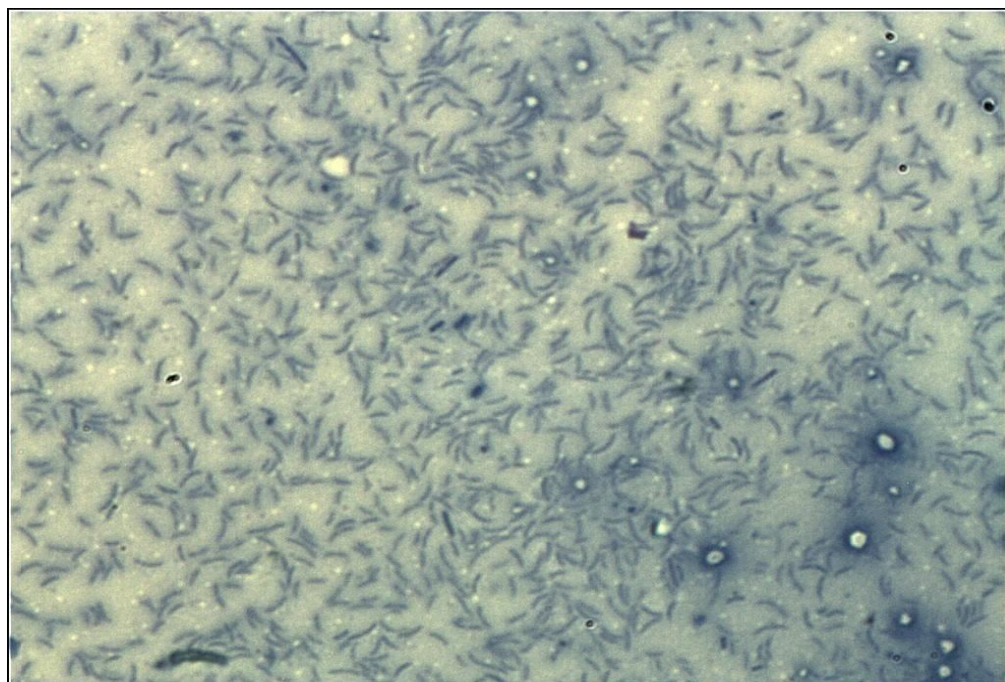
Semikvantitativna evaluacija „HLO” (<i>Helicobacter like organisms</i>)	Broj svinja uzgajanih na ekstenzivni način
0	55
+	1
++	2
+++	2
Ukupno	60



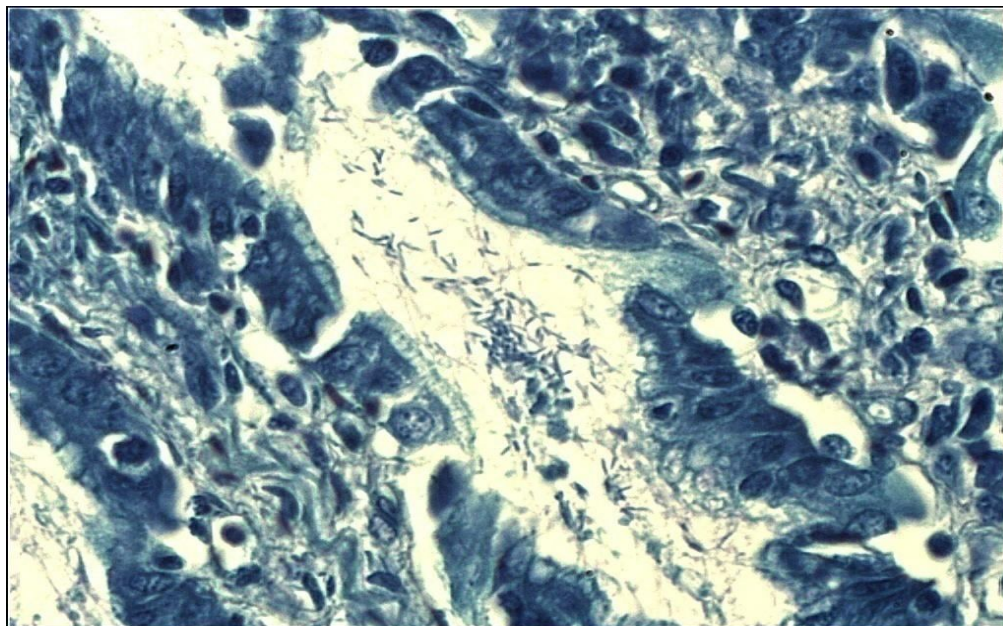
Slika 1. Semikvantitativna evaluacija HLO + u otisku želuca (metilensko plavo, 400X)



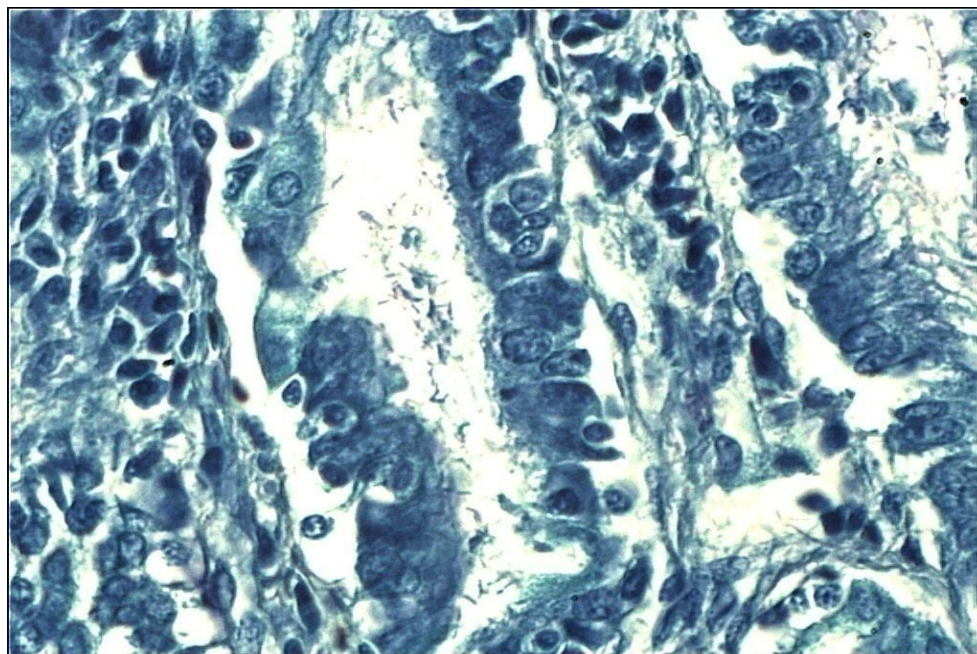
Slika 2. Semikvantitativna evaluacija HLO ++ u otisku želuca (metilensko plavo, 400X)



Slika 3. Semikvantitativna evaluacija HLO +++ u otisku želuca (metilensko plavo, 400X)



Slika 4. HLO bakterije u gastičnim foveolama fundusa želuca (modifikovana Giemsa, 400X)



Slika 5. HLO bakterije u lumenu fundusnih žlezda u gornjoj $\frac{1}{3}$ lamina propria želuca (modifikovana Giemsa, 400X)

b). Morfološka identifikacija i semikvantitativna evaluacija bakterija GLO morfologije u otisku želuca svinja

Semikvantitativna evaluacija „GLO” (*Gastrospirillum* like organisms) kod svinja uzgajanih na intenzivni način, je potvrdila da od 60 svinja, kod 5 su potvrđene GLO bakterije i kod svih 5 slučajeva denzitet bakterija je bio GLO + (tabela 5).

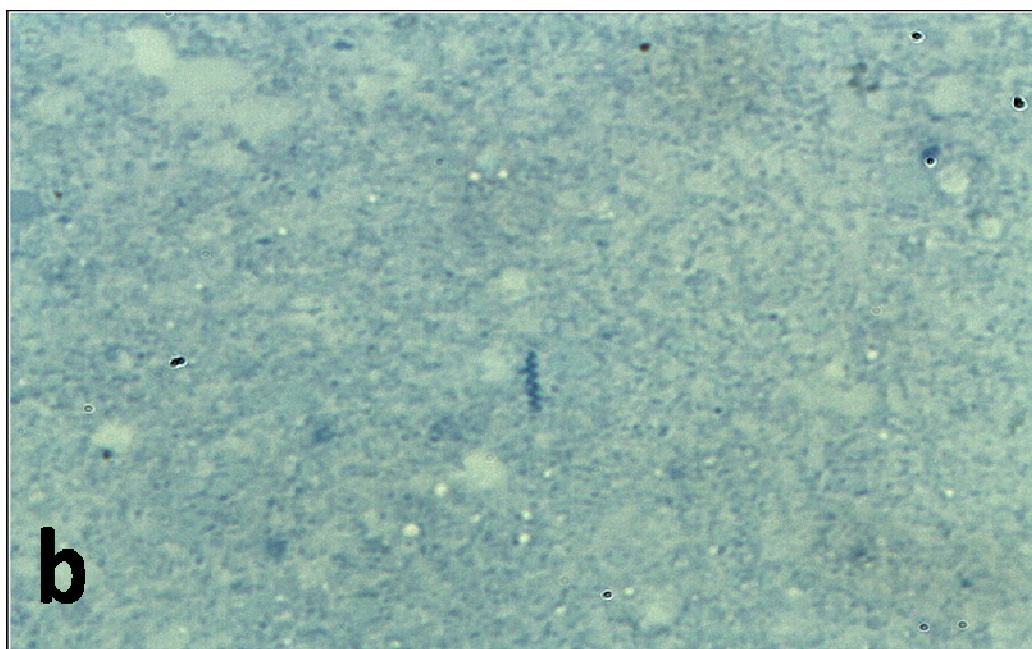
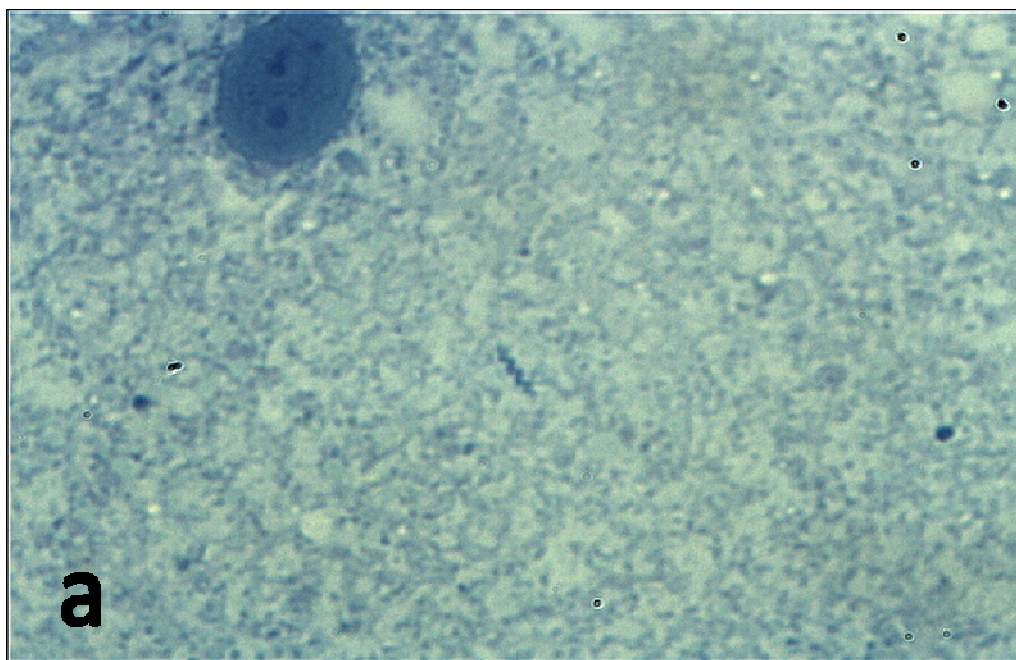
*Tabela 5. Semikvantitativna evaluacija „GLO” (*Gastrospirillum* like organisms) kod svinja uzgajanih na intenzivni način*

Semikvantitativna evaluacija „GLO” (<i>Gastrospirillum</i> like organisms)	Broj svinja uzgajanih na intenzivni način
0	55
+	5
++	0
+++	0
Ukupno	60

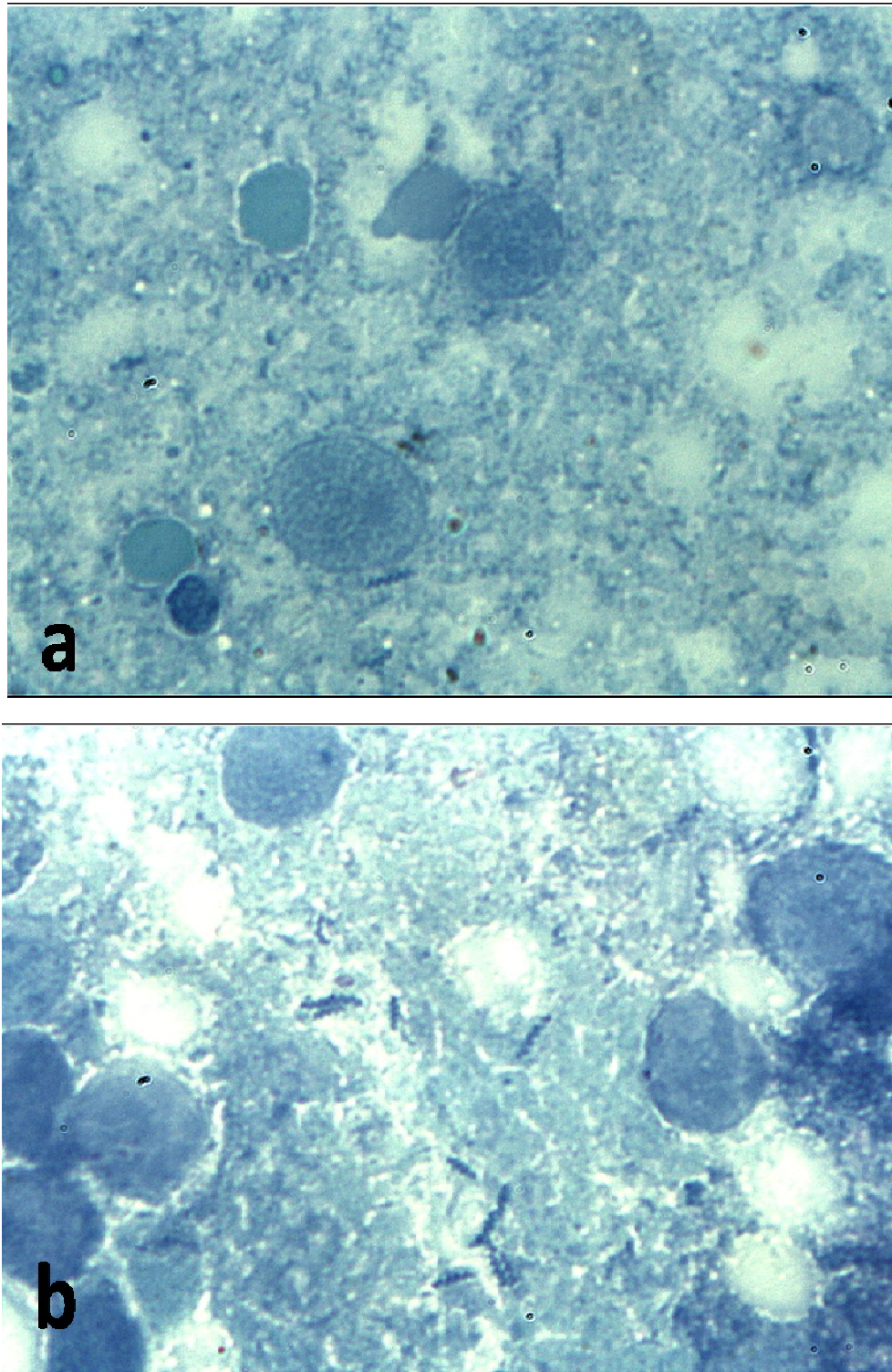
*Tabela 6. Semikvantitativna evaluacija „GLO” (*Gastrospirillum* like organisms) kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način*

Semikvantitativna evaluacija „GLO” (<i>Gastrospirillum</i> like organisms)	Broj svinja uzgajanih na ekstenzivni način
0	51
+	9
++	0
+++	0
Ukupno	60

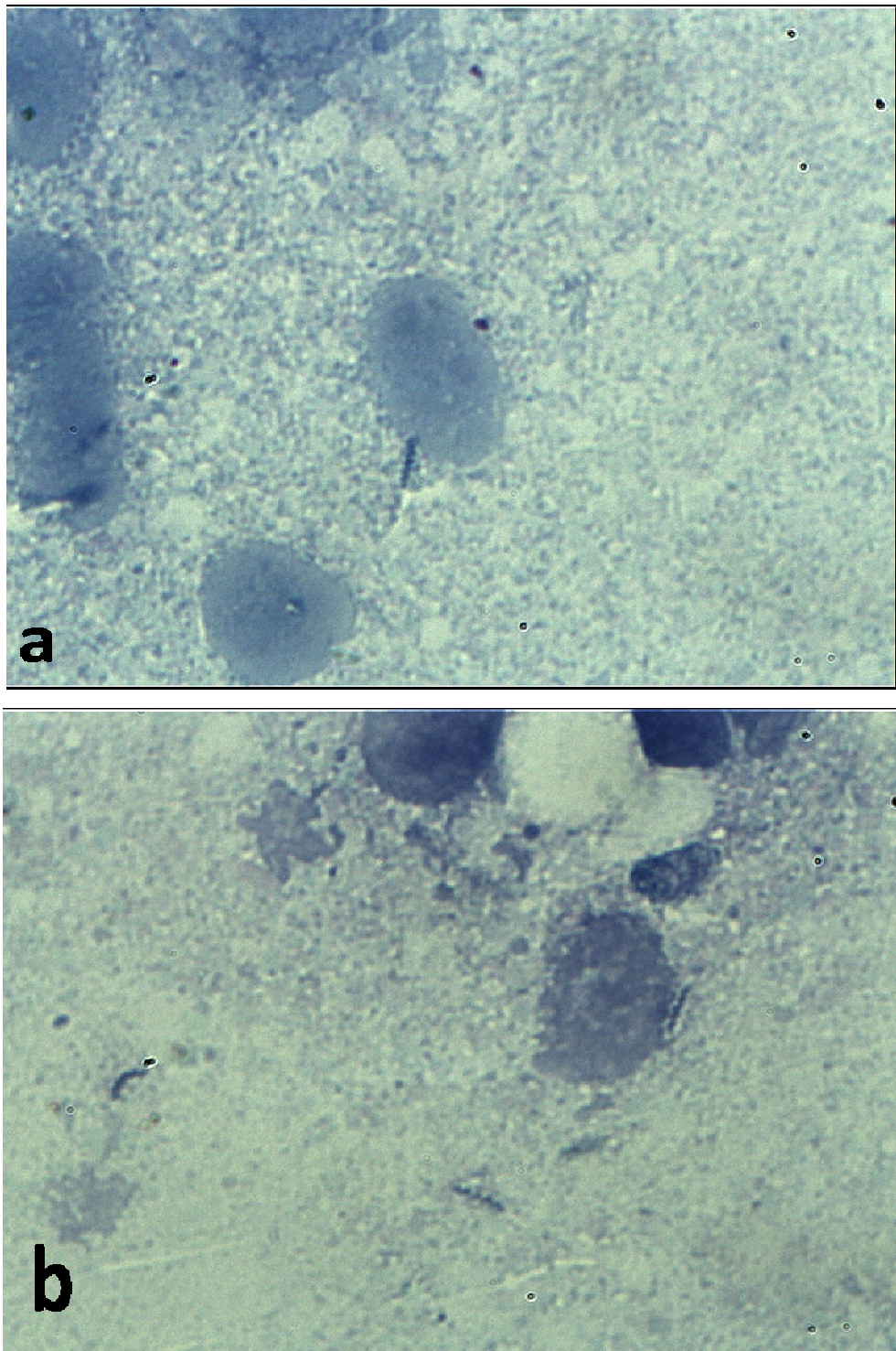
Semikvantitativna evaluacija „GLO” (Gastrospirillum like organisms) kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način, je pokazala da od 60 svinja, kod 9 su potvrđene GLO bakterije i kod svih 9 slučajeva denzitet bakterija je bio GLO + (tabela 6, slike 6, 7, 8, 9).



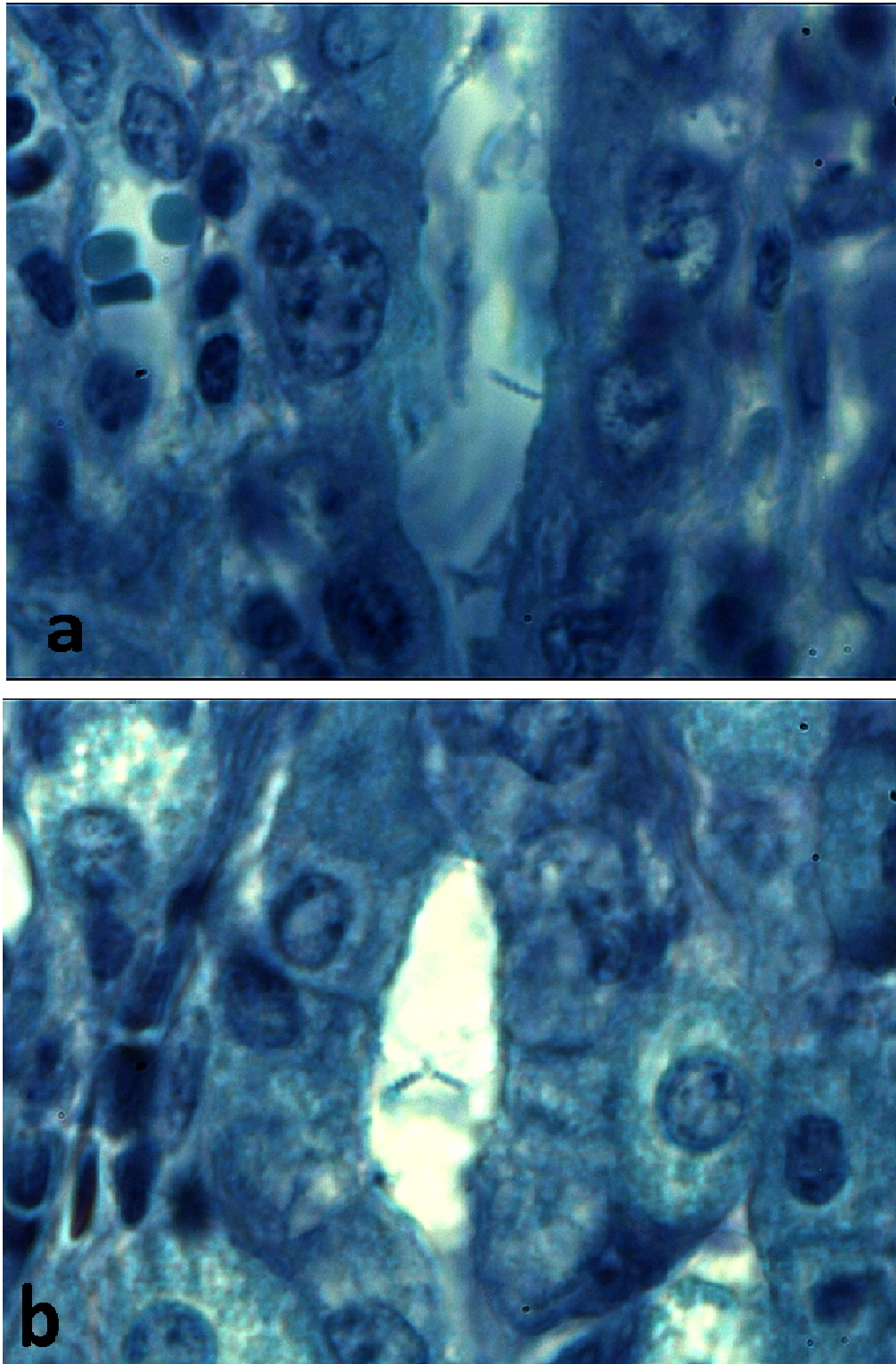
Slika 6a i b. Semikvantitativna evaluacija GLO + u otisku želuca (metilensko plavo, imerzija 1000X)



Slika 7a i b. GLO bakterije u parovima po 2 i u klasterima po 5-6 (metilensko plavo, imerzija 1000X)



Slika 8a i b. Solitarne GLO bakterije u neposrednom kontaktu sa parijetalnim ćelijama želuca (metilensko plavo, imerzija 1000X)



*Slika 9a i b. GLO bakterije u lumenu fundusnih žlezda u gornjoj trećini lamina propria želuca
(modifikovana Giemsa, 1000X)*

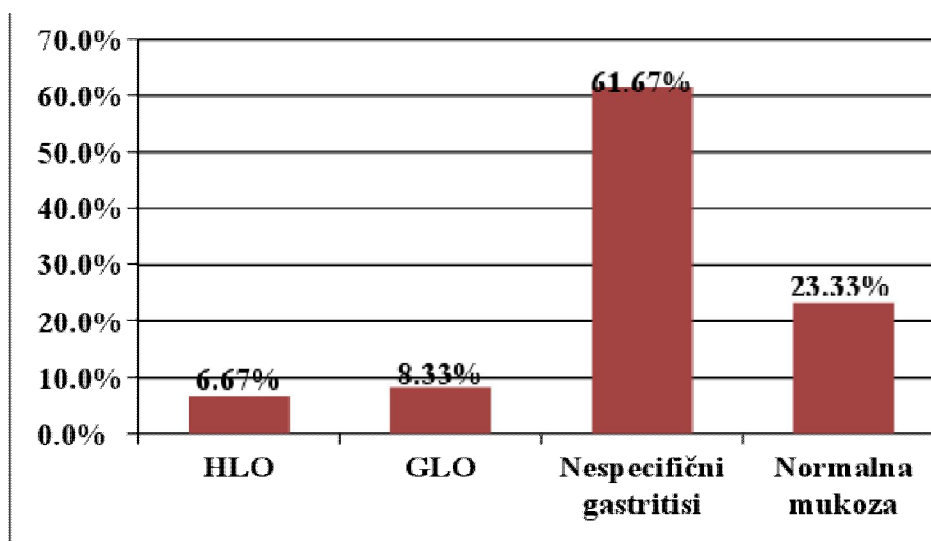
5.3. Utvrđivanje postojanja hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način i udeo *Helicobacter speciesa* u etiologiji gastritisa

5.3.1. Utvrđivanje postojanja hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način

Hronični gastritis predstavlja inflamatorno stanje želudačne mukoze okarakterizirano prisustvom inflamatornog infiltrata i povećanjem broja ćelija hronične inflamacije (limfociti i plazma ćelije) u *lamina propria*. Histološko ispitivanje kojim se utvrđuje karakter inflamatornog infiltrata je dalo sledeće rezultate (tabela 7, 8; grafikon 1, 2):

Tabela 7. Histološka evaluacija želudačne mukoze svinja uzgajanih na intenzivni način

Histološka evaluacija želudačne mukoze	Broj svinja uzgajanih na intenzivni način	Procenat (%)
HLO-gastritisi	4	6.67
GLO-gastritisi	5	8.33
Nespecifični gastritisi	37	61.67
Bez gastritisa	14	23.33
Ukupno	60	100

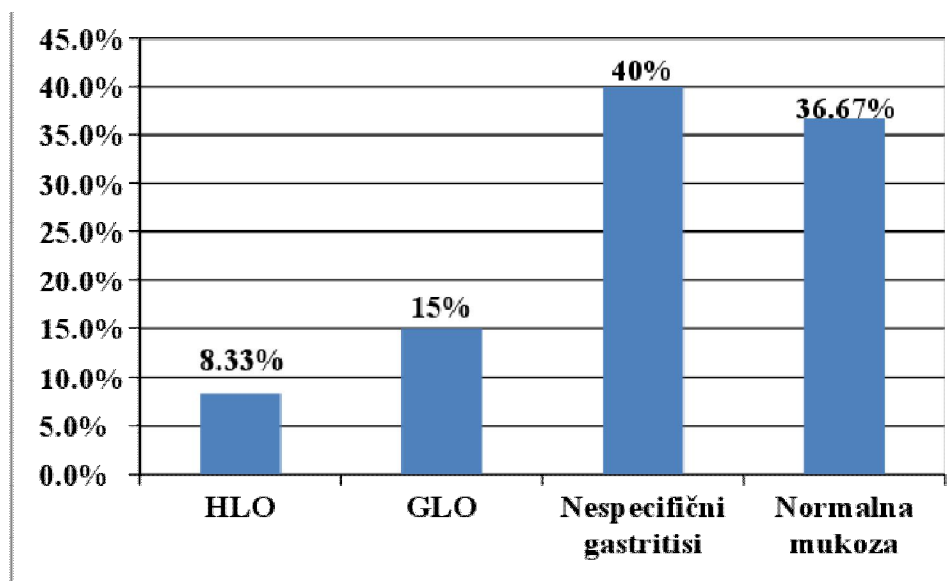


Grafikon 1. Histološka evaluacija želudačne mukoze svinja uzgajanih na intenzivni način

Na bazi histološke evaluacije želudačne mukoze 60 svinja uzgajanih na intenzivni način, utvrđeno je sledeće: kod 4 (4/60) t.j 6.67% svinja je prisutan hronični gastritis sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije (HLO-gastritisi), kod 5 (5/60) t.j 8.33% svinja hronični gastritis sa identifikovanom bakterijom GLO-morfologije (GLO-gastritisi). Nespecifični gastritis (hronični gastritisi bez identifikovanih bakterija HLO i GLO morfologije) su potvrđeni kod 24 (37/60) t.j 61.67%, dok je kod 14 (14/60) t.j 23.33% utvrđena normalna mukoza želuca (bez infiltracije *I. propria* mukoze inflamatornim ćelijama, limfocitima i plazma ćelijama).

Tabela 8. Histološka evaluacija želudačne mukoze svinja uzgajanih na ekstenzivni način

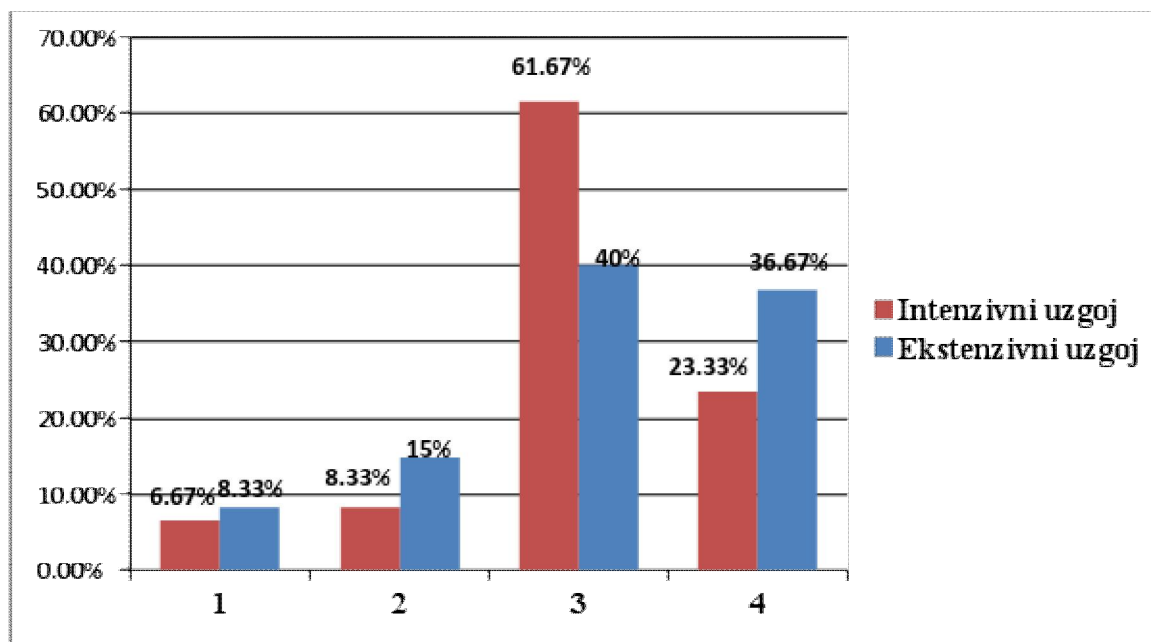
Histološka evaluacija želudačne mukoze	Broj svinja uzgajanih na ekstenzivni način	Procenat (%)
HLO-gastritisi	5	8.33
GLO-gastritisi	9	15
Nespecifični gastritisi	24	40
Bez gastritisa	22	36.67
Ukupno	60	100



Grafikon 2. Histološka evaluacija želudačne mukoze svinja uzgajanih na ekstenzivni način

Na bazi histološke evaluacije želudačne mukoze 60 svinja uzgajanih na ekstenzivni način, bilo je utvrđeno sledeće: kod 5 (5/60) t.j 8.33% svinja je prisutan hronični gastritis sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije (HLO-gastritisi), kod 9 (9/60) t.j 15% svinja

hronični gastritis sa identifikovanom bakterijom GLO-morfologije (GLO-gastritisi). Nespecifični gastritis (hronični gastritisi bez identifikovanih bakterija HLO i GLO morfologije) su potvrđeni kod 24 (24/60) t.j 40%, dok je kod 22 (22/60) t.j 36.67% utvrđena normalna mukoza želuca (bez infiltracije *L. propria* mukoze inflamatornim ćelijama: limfocitima i plazma ćelijama).



Grafikon 3. Komparacija rezultata histološke evaluacije želudačne mukoze svinja u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju

Komparacijom rezultata histološke evaluacije želudačne mukoze svinja u intenzivnom i intenzivnom uzgoju, utvrđeno je sledeće: HLO-gastritisi su utvrđeni kod 6.67% svinja u intenzivnom i 8.33% svinja u ekstenzivnom uzgoju; GLO-gastritisi su zastupljeni kod 8.33% svinja u intenzivnom i 15% svinja u ekstenzivnom uzgoju. Nespecifični gastritis je potvrđen kod 66.67% svinja u intenzivnom i 40% svinja u ekstenzivnom uzgoju, dok normalna mukoza, bez histoloških odlika gastritisa je prisutna kod 23.33% svinja u intenzivnom i 36.67% svinja u ekstenzivnom uzgoju (grafikon 3).

5.3.2. Udeo *Helicobacter* spp. u etiologiji gastritisa svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način

Prema bakterijskom nalazu hroničnih gastritisa koji se odnosi na postojanje bakterija *Helicobacter* speciesa, od 46 svinja uzgajanih na intenzivni način kod kojih je utvrđeno postojanje hroničnog gastritisa, 37 (37/46) t.j 80.43% je imalo negativan nalaz na prisustvo *Helicobacter* spp. dok je 9 (9/46) t.j 19.57% bilo pozitivno na prisustvo *Helicobacter* speciesa (tabela 9).

Tabela 9. Udeo *Helicobacter* spp. u etiologiji gastritisa svinja uzgajanih na intenzivni način

Bakterijski (<i>Helicobacter</i> spp.) nalaz hroničnog gastritisa	Broj svinja uzgajanih na intenzivni način	Procenat (%)
Hronični gastritisi (<i>Helicobacter</i> spp. negativni)	37	80.43
Hronični gastritisi (<i>Helicobacter</i> spp. pozitivni)	9	19.57
HLO	4	8.70
GLO	5	10.87
Ukupno	46	100

Tabela 10. Udeo *Helicobacter* spp. u etiologiji gastritisa svinja uzgajanih na ekstenzivni način

Bakterijski (<i>Helicobacter</i> spp.) nalaz hroničnog gastritisa	Broj svinja uzgajanih na ekstenzivni način	Procenat (%)
Hronični gastritisi (<i>Helicobacter</i> spp. negativni)	24	63.16
Hronični gastritisi (<i>Helicobacter</i> spp. pozitivni)	14	36.84
HLO	5	13.16
GLO	9	23.68
Ukupno	38	100

Prema bakterijskom nalazu hroničnih gastritisa koji se odnosi na postojanje bakterija *Helicobacter speciesa*, od 38 svinja uzgajanih na ekstenzivni način kod kojih je utvrđeno postojanje hroničnog gastritisa, 24 (24/38) t.j 63.16% su imale negativan nalaz na prisustvo *Helicobacter spp.*, dok je 14 (14/38) t.j 36.84% bilo pozitivno na nalaz *Helicobacter speciesa* (tabela 10).

5.3.3. Ocenjivanje stepena hroničnog gastritisa svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000) i određivanje srednje vrednosti hroničnih gastritisa (*Helicobacter spp.* pozitivni i *Helicobacter spp.* negativni) po anatomskoj regiji

Tabela 11. Ocenjivanje stepena hroničnog gastritisa (*Helicobacter spp.* + / -) u pars oesophagea, fundusu i pilorusu svinja uzgajanih na intenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000)

Regije želuca (<i>Helicobacter spp.</i> + / -)	Stepen hronične inflamacije	Broj svinja
<i>Pars oesophagea</i>	0	14
	1	22
	2	24
	3	0
<i>Pars fundica</i>	0	14
	1	38
	2	8
	3	0
<i>Pars pylorica</i>	0	14
	1	19
	2	27
	3	0
Ukupni broj svinja u intenzivnom uzgoju		60

Ocenjivanjem stepena ukupno 46 hroničnih gastritisa (*Helicobacter* spp. + / -) prema Park J.H, et al., (2000) u odnosu na zasebne regionine želuca (*pars oesophagea*, *fundus* i *pilorus*) svinja uzgajanih na intenzivni način, došli smo do sledećih rezultata: *pars oesophagea*: 14 uzorka su bili normalnog izgleda (0 stepen), 22 su imali 1 stepen inflamacije, 24 su imali 2 stepen inflamacije; *pars fundica*: 14 uzorka su bili normalnog izgleda (0 stepen), 38 su imali 1 stepen inflamacije, 2 su ocenjeni sa 2 stepenom inflamacije; *pars pylorica*: 14 uzorka su bili normalnog izgleda (0 stepen), 19 su imali 1 stepen inflamacije a 27 su ocenjeni sa 2 stepenom inflamacije (tabela 11).

Tabela 12. Ocenivanje stepena hroničnog gastritisa (*Helicobacter* spp. + / -) u *pars oesophagea*, *fundusu* i *pilorusu* svinja uzgajanih na ekstenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000)

Regije želuca (<i>Helicobacter</i> spp. + / -)	Stepen hronične inflamacije	Broj svinja
<i>Pars oesophagea</i>	0	22
	1	27
	2	9
	3	1
<i>Pars fundica</i>	0	22
	1	34
	2	4
	3	0
<i>Pars pylorica</i>	0	22
	1	21
	2	16
	3	1
Ukupni broj svinja u ekstenzivnom uzgoju		60

Ocenivanjem stepena ukupno 38 hroničnih gastritisa (*Helicobacter* spp. + / -) prema Park J.H, et al., (2000) u odnosu na zasebni region želuca (*pars oesophagea*, *fundus* i *pilorus*) svinja

uzgajanih na ekstenzivni način, došli smo do sledećih rezultata: *pars oesophagea*: 22 uzorka su bila normalnog izgleda (0 stepen), 27 su imali 1 stepen inflamacije, 9 su imali 2 stepen inflamacije i 1 sa 3 stepenom inflamacije; *pars fundica*: 22 uzorka su bila normalnog izgleda (0 stepen), 34 su imali 1 stepen inflamacije, 4 su ocenjeni sa 2 stepenom inflamacije; *pars pylorica*: 22 uzorka su bili normalnog izgleda (0 stepen), 21 su imali 1 stepen inflamacije a 16 su ocenjeni sa 2 stepenom inflamacije i 1 sa 3 stepenom inflamacije (tabela 12).

Tabela 13. Srednje vrednosti hroničnih gastritisa (*Helicobacter* spp. pozitivni i *Helicobacter* spp. negativni) svinja uzgajanih na intenzivni način, po anatomskim regionima:

Hronični gastritisi	Broj uzoraka	Srednja vrednost
<i>Helicobacter</i> spp. negativni	37	1.42
Pars oesophagea	37	1.54
<i>Pars fundica</i>	37	1.16
<i>Pars pylorica</i>	37	1.57
<i>Helicobacter</i> spp. pozitivni	9	1.44
<i>Pars oesophagea</i>	9	1.44
<i>Pars fundica</i>	9	1.22
<i>Pars pylorica</i>	9	1.67
Ukupni broj želudaca sa hroničnim gastritisom	46	1.43

U grupi svinja uzgajanih na intenzivni način, ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa bez identifikovanih bakterija *Helicobacter* spp., iznosi 1.42, a srednja vrednost po regionima je sledeća: *pars oesophagea* - 1.54, *pars fundica* – 1.16, *pars pylorica* – 1.57. Srednja vrednost hroničnih gastritisa sa identifikovanim bakterijama *Helicobacter* spp., iznosi 1.44, a srednja vrednost po regionima je sledeća: *pars oesophagea* - 1.44, *pars fundica* – 1.22, *pars pylorica* – 1.67. Ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa (*Helicobacter* spp. pozitivnih i *Helicobacter* spp. negativnih) kod svinja uzgajanih na intenzivni način iznosi 1.43 (tabela 13).

Tabela 14. Srednje vrednosti hroničnih gastritisa (*Helicobacter spp.* pozitivni i *Helicobacter spp.* negativni) svinja uzgajanih na ekstenzivni način, po regionima:

Hronični gastritisi	Broj	Srednja vrednost
<i>Helicobacter spp.</i> negativni	24	1.19
<i>Pars oesophagea</i>	24	1.08
<i>Pars fundica</i>	24	1.08
<i>Pars pylorica</i>	24	1.42
<i>Helicobacter spp.</i> pozitivni	14	1.43
<i>Pars oesophagea</i>	14	1.21
<i>Pars fundica</i>	14	1.14
<i>Pars fundica</i>	14	1.57
Ukupni broj želuca sa hroničnim gastritisom	38	1.29

U grupi svinja uzgajanih na ekstenzivni način, ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa bez identifikovanih bakterija *Helicobacter spp.*, iznosi 1.21, a srednja vrednost po regionima je sledeća: *pars oesohagea* - 1.08, *pars fundica* – 1.08, *pars pylorica* – 1.42. Srednja vrednost hroničnih gastritisa sa identifikovanim bakterijama *Helicobacter spp.*, iznosi 1.43, a srednja vrednost po regionima je sledeća: *pars oesohagea* - 1.21, *pars fundica* – 1.15, *pars pylorica* – 1.57. Ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa (*Helicobacter spp.* pozitivnih i *Helicobacter spp.* negativnih) kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način iznosi 1.29 (tabela 14).

5.3.4. Ocenjivanje stepena GLO i HLO hroničnih gastritisa svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000) i određivanje srednje vrednosti po regionima

Ocenjivanje stepena i srednja vrednost GLO hroničnih gastritisa po regionima daje se u tabeli 15, 16, 17 i 18.

Tabela 15. Oceana stepena hroničnog gastritisa u pars oesophagea, fundusu i pilorusu GLO (Gastrospirillum like organisms) pozitivnih svinja uzgajanih na intenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000)

Regije želuca (GLO pozitivni)	Stepen hronične inflamacije	Broj svinja (intenzivni uzgoj)
<i>Pars oesophagea</i>	1	4
	2	1
	3	0
<i>Pars fundica</i>	1	5
	2	0
	3	0
<i>Pars pylorica</i>	1	3
	2	2
	3	0
Ukupno		5

Ocenjivanjem stepena ukupno 5 hroničnih gastritisa sa identifikovanom bakterijom GLO morfologije prema Park J.H, et al., (2000) u odnosu na zasebne regione želuca (pars oesophagea, fundus i pilorus) svinja uzgajanih na intenzivni način, došli smo do sledećih rezultata: *pars oesophagea*: 4 uzorka ima 1 stepen inflamacije, a 1 ima 2 stepen inflamacije; *pars fundica* svih 5

su ocenjeni sa stepen inflamacije 1; *pars pylorica*: 3 su bili ocenjeni stepenom inflamacije 1, a 2 stepenom inflamacije 2.

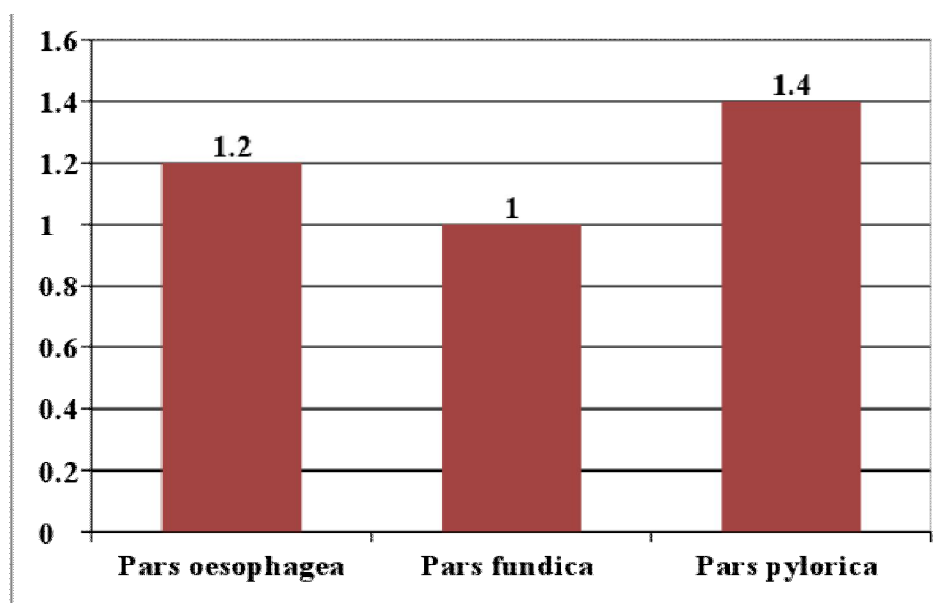
Tabela 16. Ocena stepena hroničnog gastritisa u pars oesophagea, fundusu i pilorusu GLO (Gastrospirillum like organisms) pozitivnih svinja uzgajanih na ekstenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000)

Regije želuca (GLO pozitivni)	Stepen hronične inflamacije	Broj svinja (ekstenzivni uzgoj)
<i>Pars oesophagea</i>	1	7
	2	1
	3	1
<i>Pars fundica</i>	1	8
	2	1
	3	0
<i>Pars pylorica</i>	1	7
	2	2
	3	0
Ukupno		9

Ocenjivanjem stepena inflamacije ukupno 9 hroničnih gastritisa sa identifikovanom bakterijom GLO morfologije prema Park J.H, et al., (2000) u zasebnim regionima želuca (*pars oesophagea*, *fundusu* i *pilorusu*) svinja uzgajanih na ekstenzivni način, došli smo do sledećih rezultata: *pars oesophagea*: 7 uzorka ima stepen inflamacije 1, 1 ima stepen inflamacije 2 i 1 je ocenjen sa stepenom inflamacije 3; *pars fundica*: 8 su ocenjeni sa stepen inflamacije 1, a 1 sa stepenom inflamacije 2; *pars pylorica*: 7 su bili ocenjeni stepenom inflamacije 1, a 2 stepenom inflamacije 2.

Tabela 17. Srednja vrednost GLO hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni način

Bakteriološki nalaz kod hroničnih gastritisa	Broj želuca/regija	Srednja vrednost
GLO pozitivni	5	1.20
Pars oesophagea	5	1.20
Pars fundica	5	1.00
Pars pylorica	5	1.40

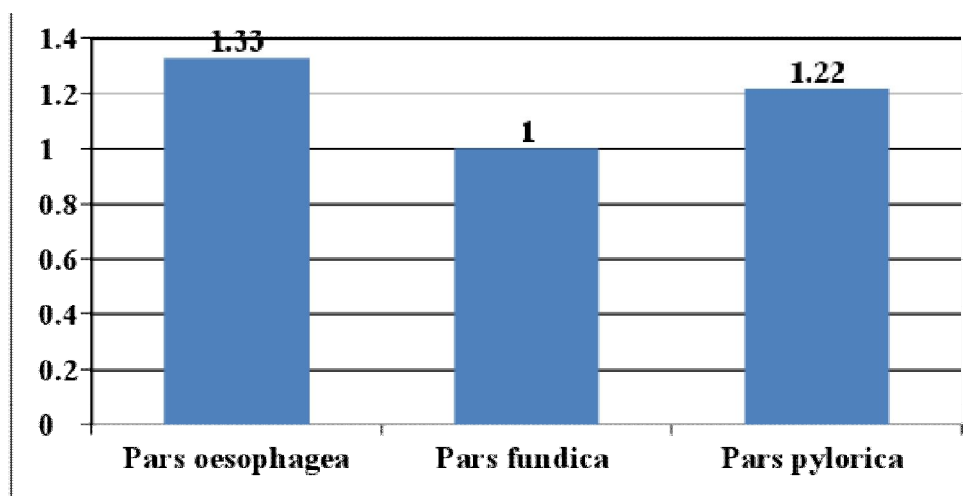


Grafikon 4. Srednja vrednost GLO pozitivnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni način (prema anatomske različitim regionima)

Ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa sa identifikovom bakterijom GLO morfologije u grupi svinja uzgajanih na intenzivni način iznosi 1.20. Srednja vrednost zasebnih regiona je sledeća: *pars oesophagea* – 1.20, *pars fundica* – 1.00, *pars pylorica* – 1.40.

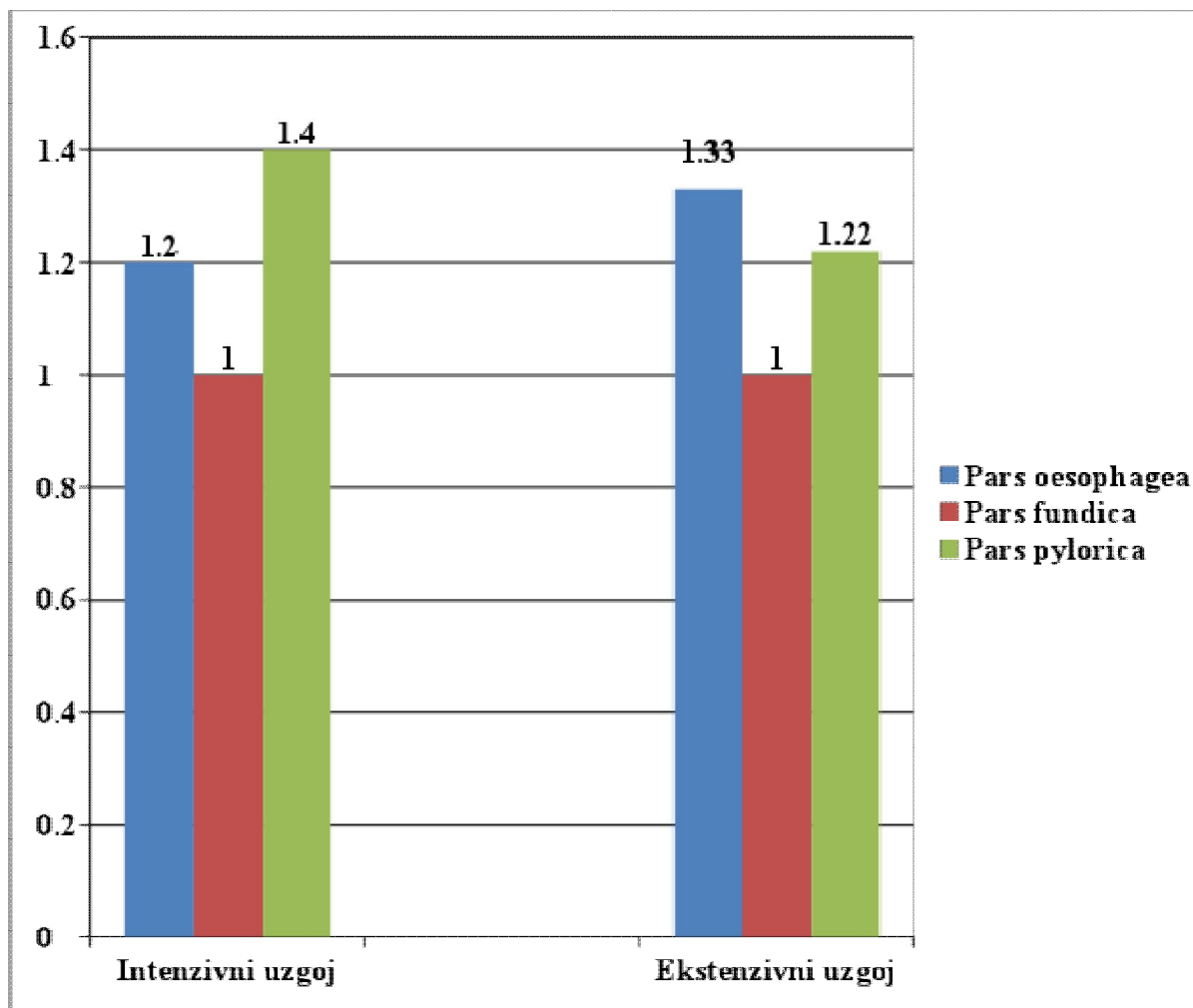
Tabela 18. Srednja vrednost GLO hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način

Bakteriološki nalaz kod hroničnih gastritisa	Broj	Srednja vrednost
GLO pozitivni	9	1.15
<i>Pars oesophagea</i>	9	1.33
<i>Pars fundica</i>	9	1.00
<i>Pars pylorica</i>	9	1.22



Grafikon 5. Srednja vrednost GLO pozitivnih gastritisa kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način (prema anatomske različitim regionima)

Ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa sa identifikovom bakterijom GLO morfologije u grupi svinja uzgajanih na ekstenzivni način iznosi 0.63. Srednja vrednost zasebnih regiona je sledeća: *pars oesophagea* – 1.33, *pars fundica* – 1.00, *pars pylorica* – 1.22.



Grafikon 6. Komparacija srednjih vrednosti GLO pozitivnih gastritisa svinja u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju (prema anatomske različitim regionima)

Komparacijom srednjih vrednosti GLO pozitivnih gastritisa svinja u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju, utvrđeno je da srednje vrednosti anatomske različite regije iznose: *pars oesophagea*: 1.2 u intenzivnom t.j 1.33 u ekstenzivnom uzgoju; *pars fundica*: 1.0 u ekstenzivnom i intenzivnom uzgoju i *pars pylorica*: 1.22 u intenzivnom t.j 1.4 u ekstenzivnom uzgoju.

Ocenjivanje stepena i srednja vrednost HLO hroničnih gastritisa daje se u tabelama 19, 20, 21 i 22.

Tabela 19. Ocena stepena hroničnog gastritisa u pars oesophagea, fundusu i pilorusu HLO (Helicobacter like organisms) pozitivnih svinja uzgajanih na intenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000)

Regije želuca	Stepen hronične inflamacije	Broj svinja
<i>Pars oesophagea</i>	1	1
	2	3
	3	0
<i>Pars fundica</i>	1	2
	2	2
	3	0
<i>Pars pylorica</i>	1	0
	2	4
	3	0
Ukupni broj HLO pozitivnih svinja (intenzivni uzgoj)		4

Ocenjivanjem stepena ukupno 4 hronična gastritisa sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije prema Park J.H, et al., (2000) iz zasebnih regiona želuca (pars oesophagea, fundusa i pilorusa) svinja uzgajanih na intenzivni način, došli smo do sledećih rezultata: *pars oesophagea*: 1 uzorak ima stepen 1 inflamacije, 3 imaju stepen 2 inflamacije; *pars fundica*: 2 imaju stepen 1 inflamacije, 2 su ocenjeni sa stepenom 2 inflamacije; *pars pylorica*: svi 4 uzorci su ocenjeni sa stepenom 2 inflamacije.

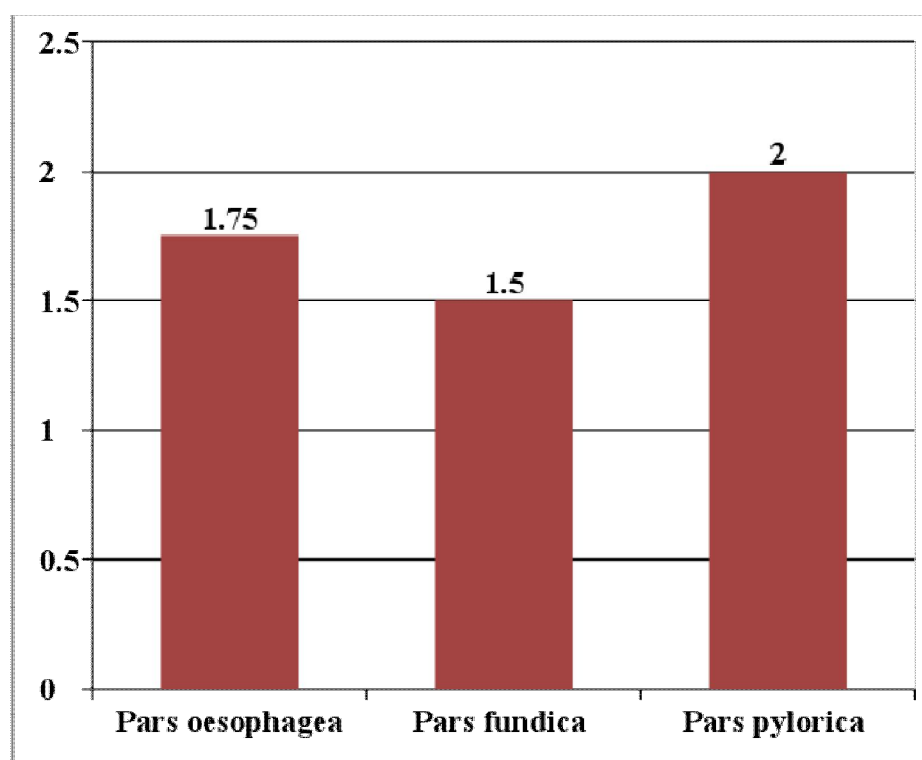
Tabela 20. Ocena stepena hroničnog gastritisa u pars oesophagea, fundusu i pilorusu HLO (Helicobacter like organisms) pozitivnih svinja uzgajanih na ekstenzivni način (prema Park J.H, et al., 2000)

Regije želuca	Stepen hronične inflamacije	Broj svinja
Pars oesophagea	1	0
	2	4
	3	1
Pars fundica	1	3
	2	2
	3	0
Pars pylorica	1	0
	2	4
	3	1
Ukupni broj HLO pozitivnih svinja (ekstenzivni uzgoj)		5

Ocenjivanjem stepena 5 hroničnih gastritisa sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije prema Park J.H, et al., (2000) u zasebnim regionima želuca (pars oesophagea, fundusu i pilorusu) svinja uzgajanih na ekstenzivni način, došli smo do sledećih rezultata: *pars oesophagea*: 4 uzorka imaju stepen 2 inflamacije, a 1 je ocenjen sa stepenom 3 inflamacije; *pars fundica*: 3 imaju stepen 1 inflamacije, 2 su ocenjeni sa stepenom 2 inflamacije; *pars pylorica*: 4 su ocenjeni sa stepenom 2 inflamacije, a 1 sa stepenom 3 inflamacije.

Tabela 21. Srednja vrednost HLO hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni način

Bakteriološki nalaz kod hroničnih gastritisa	Broj	Srednja vrednost
HLO pozitivni	4	1.75
<i>Pars oesophagea</i>	4	1.75
<i>Pars fundica</i>	4	1.50
<i>Pars pylorica</i>	4	2.00

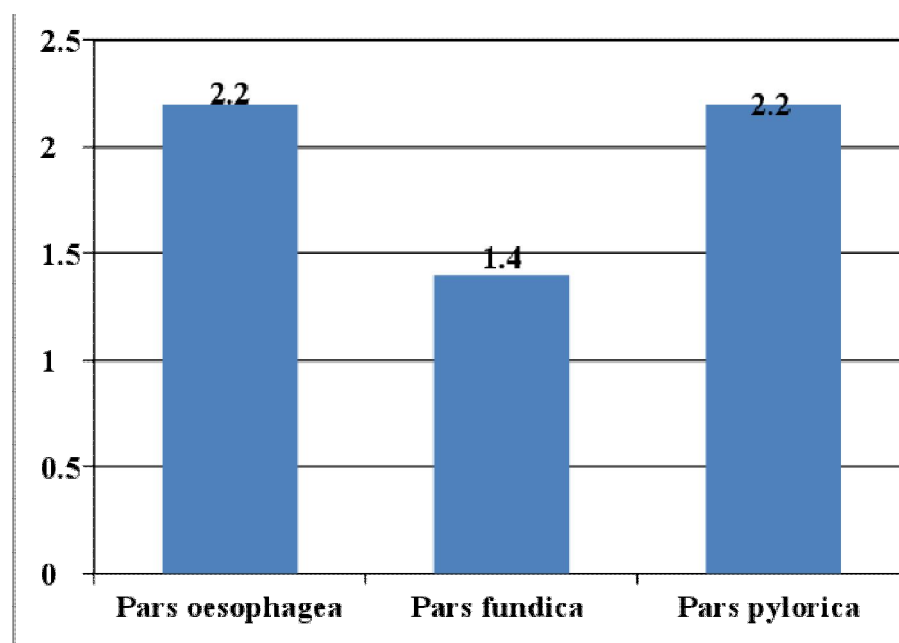


Grafikon 7. Srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni način (prema anatomske različitim regionima)

Ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije u grupi svinja uzgajanih na intenzivni način iznosi 1.75. Srednja vrednost zasebnih regiona je sledeća: *pars oesophagea* – 1.74, *pars fundica* – 1.50, *pars pylorica* – 2.00.

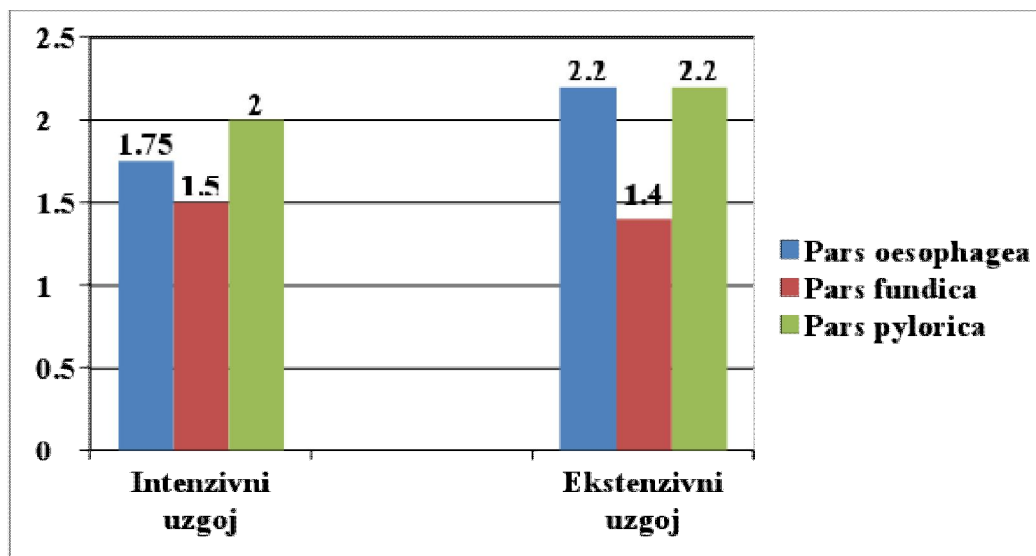
Tabela 22. Srednja vrednost HLO hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način

Bakteriološki nalaz kod hroničnih gastritisa	Broj želuca/regija	Srednja vrednost
HLO pozitivni	5	1.93
<i>Pars oesophagea</i>	5	2.20
<i>Pars fundica</i>	5	1.40
<i>Pars pylorica</i>	5	2.20



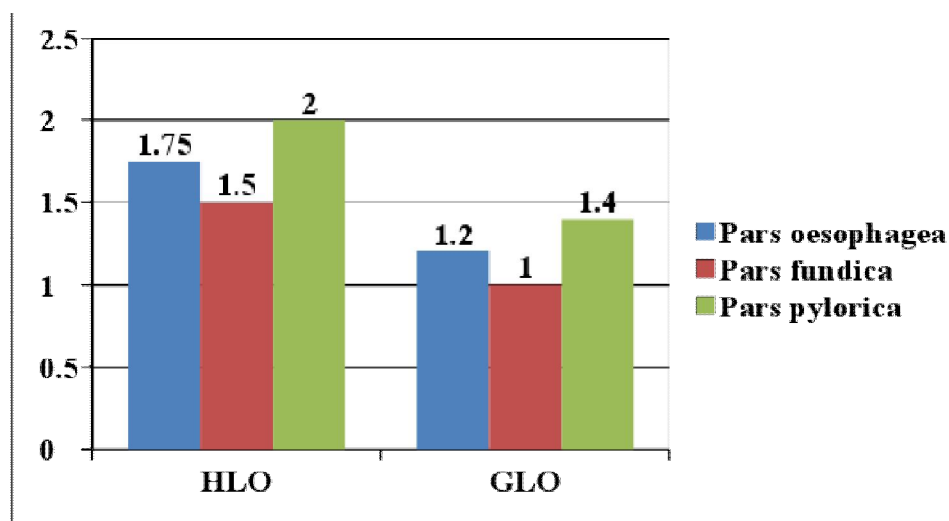
Grafikon 8. Srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način (prema anatomske različitim regionima)

Ukupna srednja vrednost hroničnih gastritisa sa identifikovom bakterijom HLO morfologije u grupi svinja uzgajanih na ekstenzivni način iznosi 1.93. Srednja vrednost zasebnih regiona je sledeća: *pars oesophagea* – 2.20, *pars fundica* – 1.40, *pars pylorica* – 2.20.



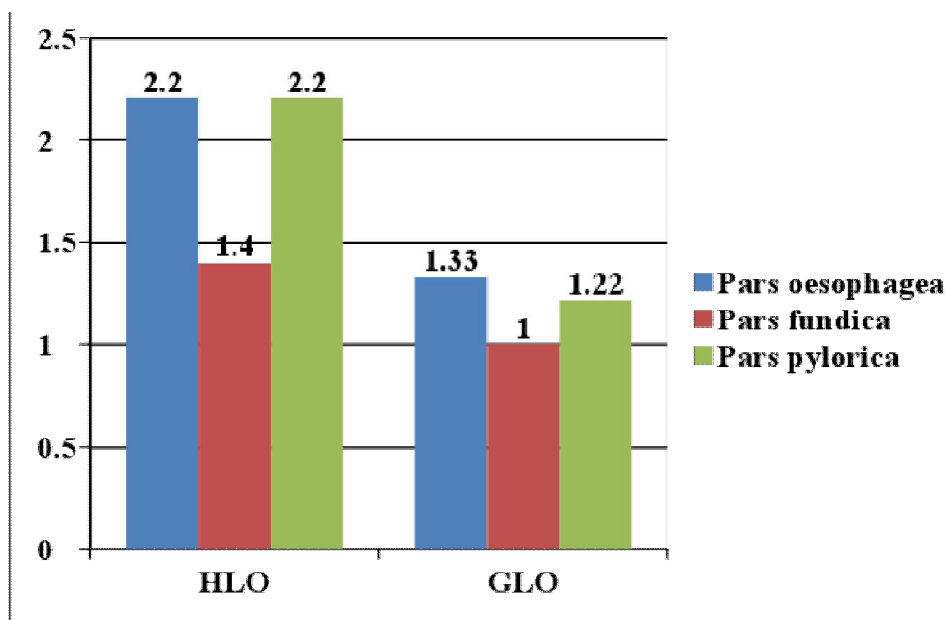
Grafikon 9. Komparacija srednjih vrednosti HLO pozitivnih gastritisa svinja u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju (prema anatomske različitim regionima)

Komparacijom srednjih vrednosti HLO pozitivnih gastritisa svinja u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju, utvrđeno je da srednje vrednosti anatomske različite regije iznose: *pars oesophagea*: 1.75 u intenzivnom, t.j. 2.2 u ekstenzivnom uzgoju; *pars fundica*: 1.5 u intenzivnom, t.j. 1.4 u ekstenzivnom uzgoju i *pars pylorica*: 2.0 u intenzivnom t.j. 2.2 u ekstenzivnom uzgoju.



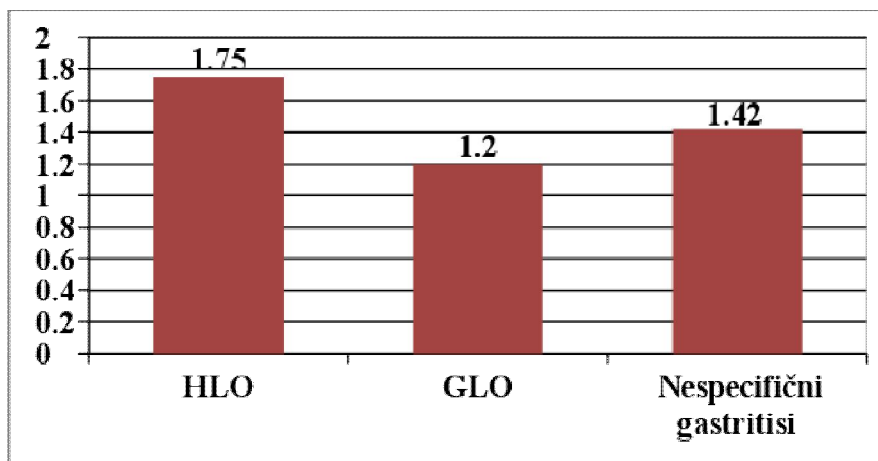
Grafikon 10. Komparacija srednjih vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) gastritisa u intenzivnom uzgoju (prema anatomske različitim regionima)

Komparacijom srednjih vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) gastritisa u intenzivnom uzgoju, utvrdili smo za: *pars oesophagea*: srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa je 1.75, a GLO pozitivnih gastritisa je 1.2; *pars fundica*: srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa je 1.5, a GLO pozitivnih gastritisa je 1.0; *pars pylorica*: srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa je 2.0, a GLO pozitivnih gastritisa je 1.4.



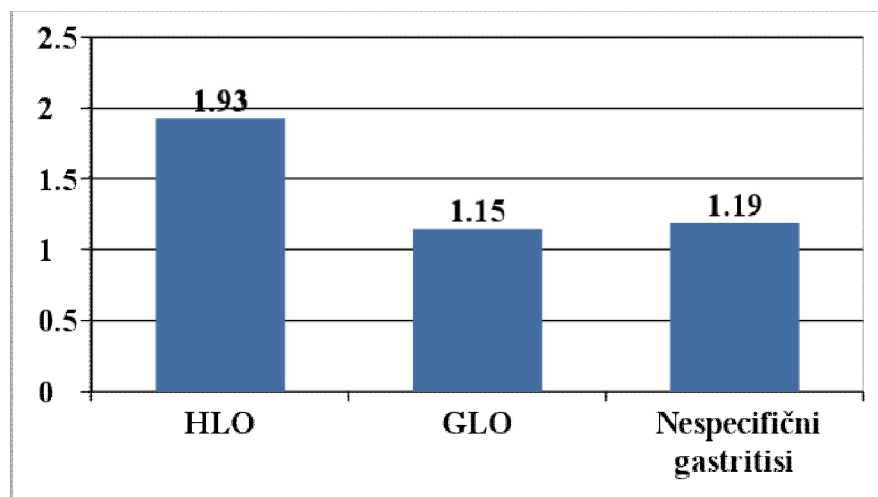
Grafikon 11. Komparacija srednjih vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) gastritisa u ekstenzivnom uzgoju (prema anatomske različitim regionima)

Komparacijom srednjih vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) gastritisa u ekstenzivnom uzgoju, utvrdili smo za: *pars oesophagea*: srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa je 2.2, a GLO pozitivnih gastritisa je 1.33; *pars fundica*: srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa je 1.4, a GLO pozitivnih gastritisa je 1.0; *pars pylorica*: srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa je 2.2, a GLO pozitivnih gastritisa je 1.22.



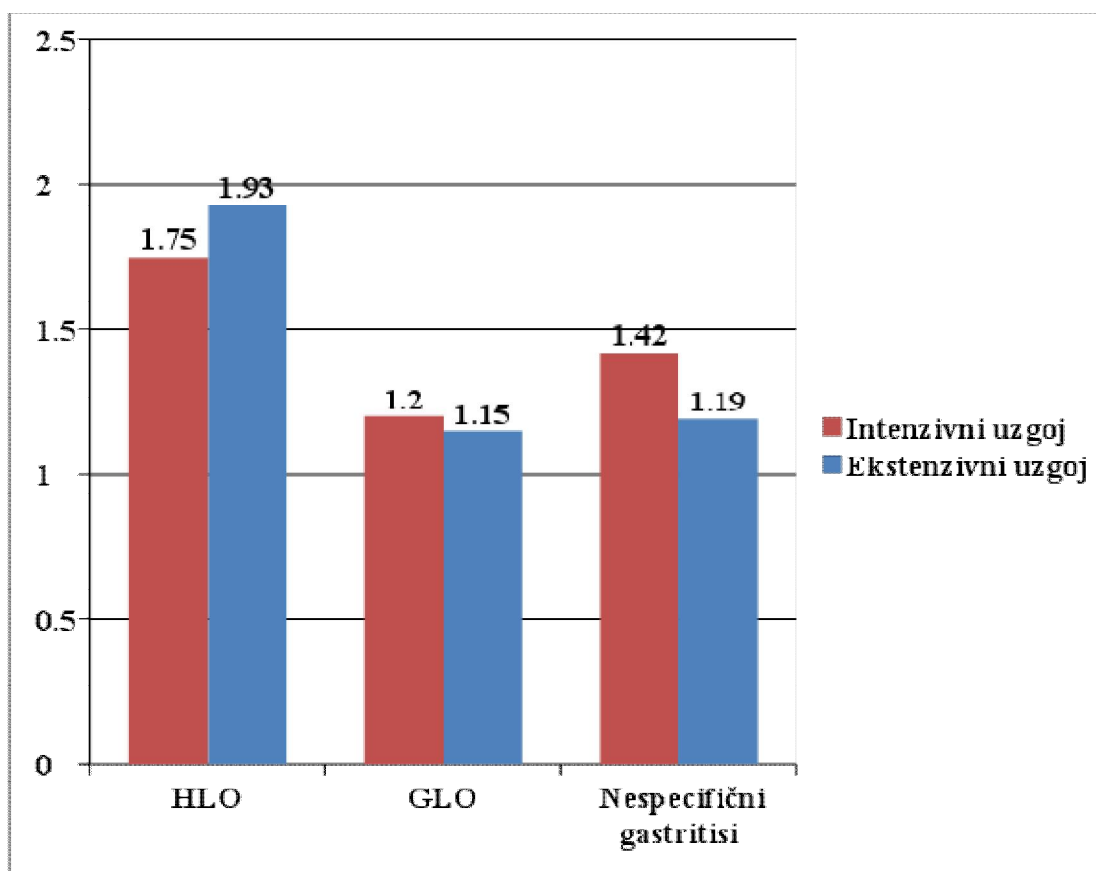
Grafikon 12. Srednje vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) i nespecifičnih (HLO i GLO negativnih) gastritisa u intenzivnom uzgoju

Srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa kod svinja u intenzivnom uzgoju iznosi 1.75, dok srednja vrednost GLO pozitivnih gastritisa je niža t.j 1.2. Srednja vrednost nespecifičnih hroničnih gastritisa (HLO i GLO negativnih) je 1.42.



Grafikon 13. Srednje vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) i nespecifičnih (HLO i GLO negativnih) gastritisa u ekstenzivnom uzgoju

Srednja vrednost HLO pozitivnih gastritisa kod svinja u intenzivnom uzgoju iznosi 1.93, dok srednja vrednost GLO pozitivnih gastritisa je niža t.j 1.15. Srednja vrednost nespecifičnih hroničnih gastritisa (HLO i GLO negativnih) je 1.19.



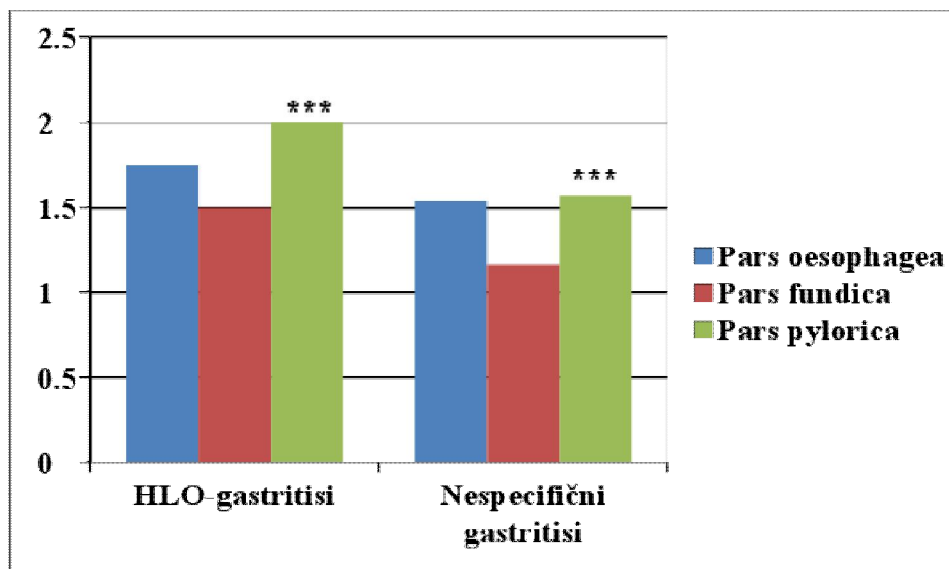
Grafikon 14. Komparacija srednjih vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) i nespecifičnih (HLO i GLO negativnih) gastritisa u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju

Komparacijom srednjih vrednosti specifičnih (HLO i GLO pozitivnih) i nespecifičnih (HLO i GLO negativnih) gastritisa u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju, utvrdili smo da HLO pozitivnih gastritisa imaju najveću srednju vrednost i iznosi 1.75 u intenzivnom, t.j 1.93 u ekstenzivnom uzgoju, dok srednja vrednost GLO pozitivnih gastritisa je najniža i iznosi 1.2 u intenzivnom t.j 1.15 u ekstenzivnom uzgoju. Nespecifični (HLO i GLO negativni) gastritisi su imali srednju vrednost od 1.42 u intenzivnom i 1.19 u ekstenzivnom uzgoju.

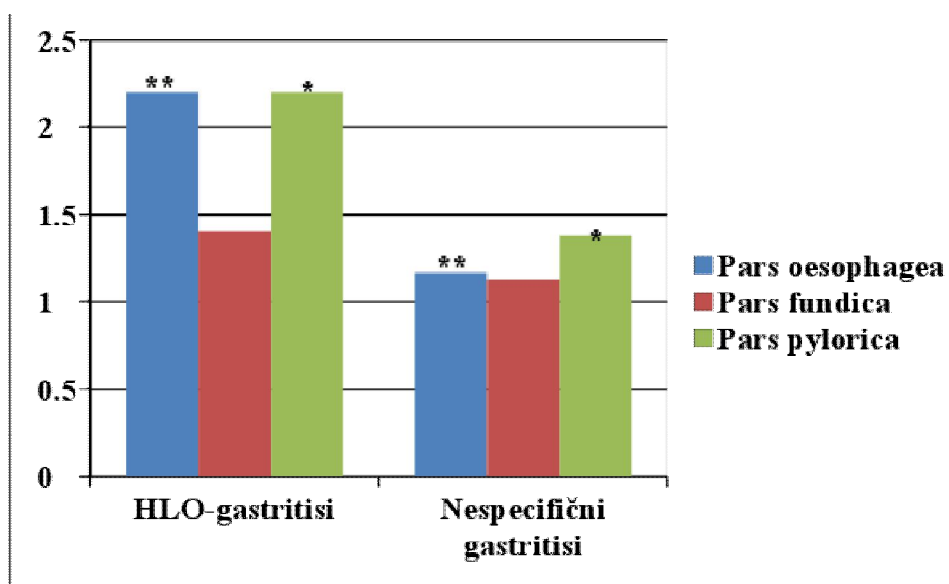
Tabela 23. Srednje vrednosti i značajnost razlike HLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju

Uzgoj (grupa)					
Intenzivni			Ekstenzivni		
Srednja vrednost \pm SD		Značajnost razlike (p-value)	Srednja vrednost \pm SD		Značajnost razlike (p-value)
HLO pozitivni (pars oesophagea) 1.75 \pm 0.5	NSG (pars oesophagea) 1.54 \pm 0.51	NZ	HLO pozitivni (pars oesophagea) 2.2 \pm 0.45	NSG (pars oesophagea) 1.17 \pm 0.38	p<0.01
HLO pozitivni (pars fundica) 1.5 \pm 0.58	NSG (pars fundica) 1.16 \pm 0.37	NZ	HLO pozitivni (pars fundica) 1.4 \pm 0.55	NSG (pars fundica) 1.13 \pm 0.34	NZ
HLO pozitivni (pars pylorica) 2 \pm 0.00	NSG (pars pylorica) 1.57 \pm 0.50	p<0.001	HLO pozitivni (pars pylorica) 2.2 \pm 0.45	NSG (pars pylorica) 1.38 \pm 0.49	p<0.05

Komparacijom srednjih vrednosti specifičnih HLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju, utvrdili smo da: u intenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars oesophagea HLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.75 \pm 0.5, a nespecifičnih gastritisa 1.54 \pm 0.51 dok značajnost razlike nije zabeležena. U ekstenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars oesophagea HLO pozitivnih gastritisa iznosi 2.2 \pm 0.45, a nespecifičnih gastritisa 1.17 \pm 0.38, a značajnost razlike je p<0.01. U intenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars fundica HLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.5 \pm 0.58, a nespecifičnih gastritisa 1.16 \pm 0.37, dok u ekstenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars fundica HLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.4 \pm 0.55, a nespecifičnih gastritisa 1.13 \pm 0.34. Značajnost razlika nije zabeležena kod oba načina uzgajanja. U intenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars pylorica HLO pozitivnih gastritisa iznosi 2 \pm 0.00, a nespecifičnih gastritisa 1.57 \pm 0.50, dok značajnost razlike je p<0.001. U ekstenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars pylorica HLO pozitivnih gastritisa iznosi 2.2 \pm 0.45, a nespecifičnih gastritisa 1.38 \pm 0.49, a značajnost razlike je p<0.05.



Grafikon 15. Značajnost razlike HLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u intenzivnom uzgoju (značajnost razlike: *** $p < 0.001$)

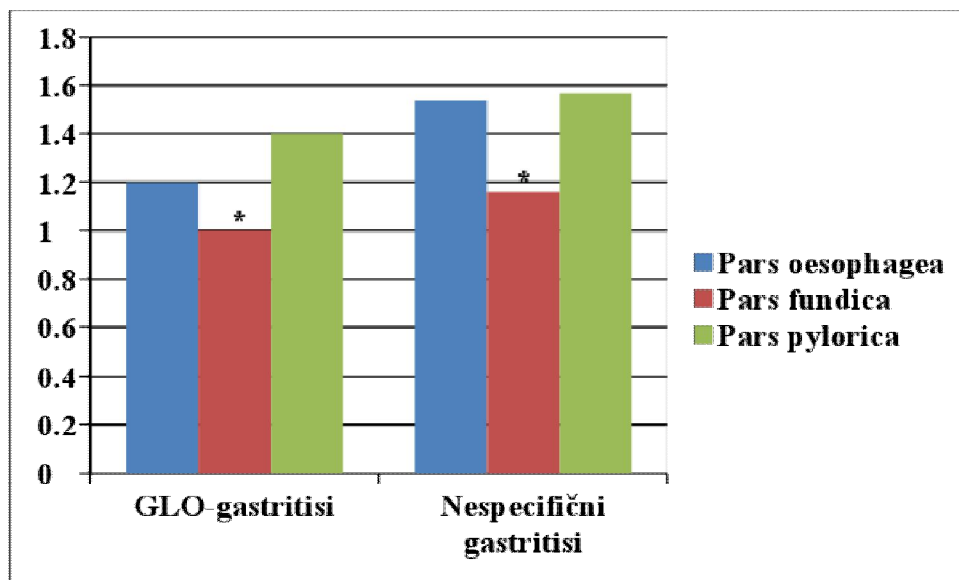


Grafikon 16. Značajnost razlike HLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u ekstenzivnom uzgoju (značajnost razlike: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

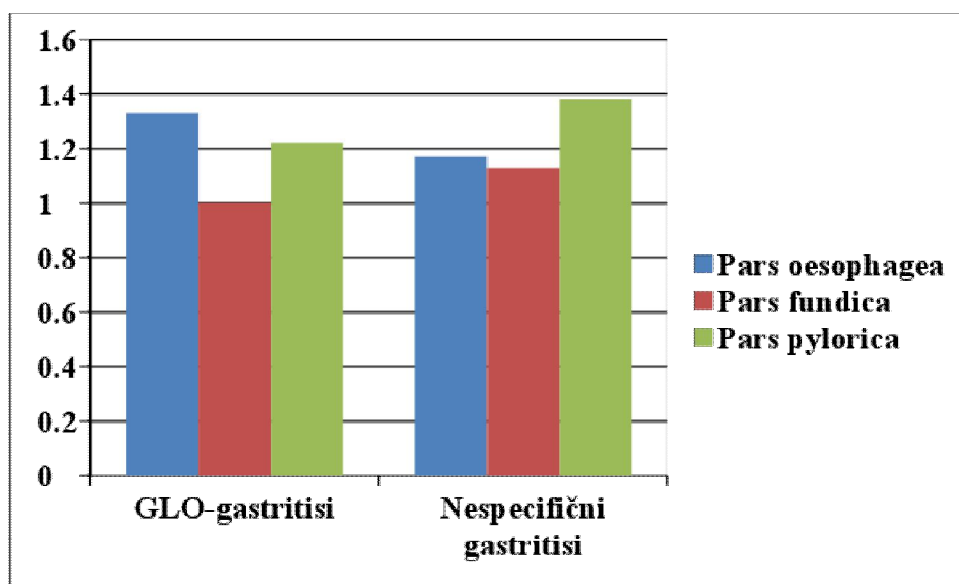
Tabela 24. Srednje vrednosti i značajnost razlike GLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u ekstenzivnom i intenzivnom uzgoju

Uzgoj (grupa)					
Intenzivni			Ekstenzivni		
Srednja vrednost \pm SD		Značajnost razlike (p-value)	Srednja vrednost \pm SD		Značajnost razlike (p-value)
GLO pozitivni (pars oesophagea) 1.2 \pm 0.45	NSG (pars oesophagea) 1.54 \pm 0.51	NZ	GLO pozitivni (pars oesophagea) 1.33 \pm 0.71	NSG (pars oesophagea) 1.17 \pm 0.38	NZ
GLO pozitivni (pars fundica) 1.0 \pm 0.00	NSG (pars fundica) 1.16 \pm 0.37	p<0.05	GLO pozitivni (pars fundica) 1.0 \pm 0.00	NSG (pars fundica) 1.13 \pm 0.34	NZ
GLO pozitivni (pars pylorica) 1.4 \pm 0.55	NSG (pars pylorica) 1.57 \pm 0.50	NZ	GLO pozitivni (pars pylorica) 1.22 \pm 0.44	NSG (pars pylorica) 1.38 \pm 0.49	NZ

Komparacijom srednjih vrednosti specifičnih GLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju, utvrdili smo da: u intenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars oesophagea GLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.2 \pm 0.45, a nespecifičnih gastritisa 1.54 \pm 0.51. U ekstenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars oesophagea GLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.33 \pm 0.71, a nespecifičnih gastritisa 1.17 \pm 0.38. Značajnost razlike nije zabeležena kod oba načina uzgajanja. U intenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars fundica GLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.0 \pm 0.00, a nespecifičnih gastritisa 1.16 \pm 0.37, a značajnost razlike je iznosila p<0.05. U ekstenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars fundica GLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.0 \pm 0.00, a nespecifičnih gastritisa 1.13 \pm 0.34, dok značajnost razlike nije zabeležena. U intenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars pylorica GLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.4 \pm 0.55, a nespecifičnih gastritisa 1.57 \pm 0.50, dok u ekstenzivnom uzgoju, srednja vrednost pars pylorica GLO pozitivnih gastritisa iznosi 1.22 \pm 0.44, a nespecifičnih gastritisa 1.38 \pm 0.49. Značajnost razlike nije zabeležena kod oba načina uzgajanja (tabele 23, 24, grafikoni 7-18).



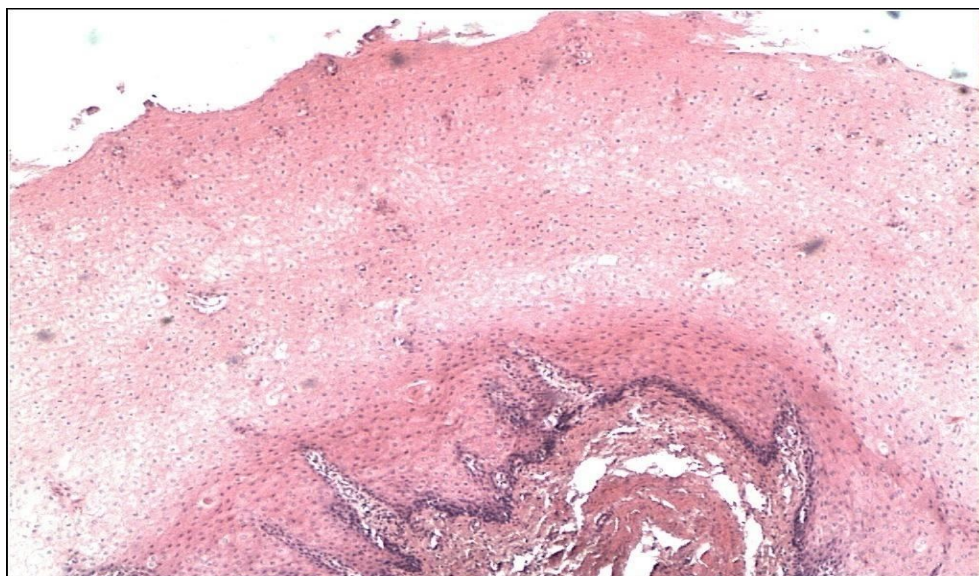
Grafikon 17. Značajnost razlike GLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u intenzivnom uzgoju
(značajnost razlike: * $p < 0.05$)



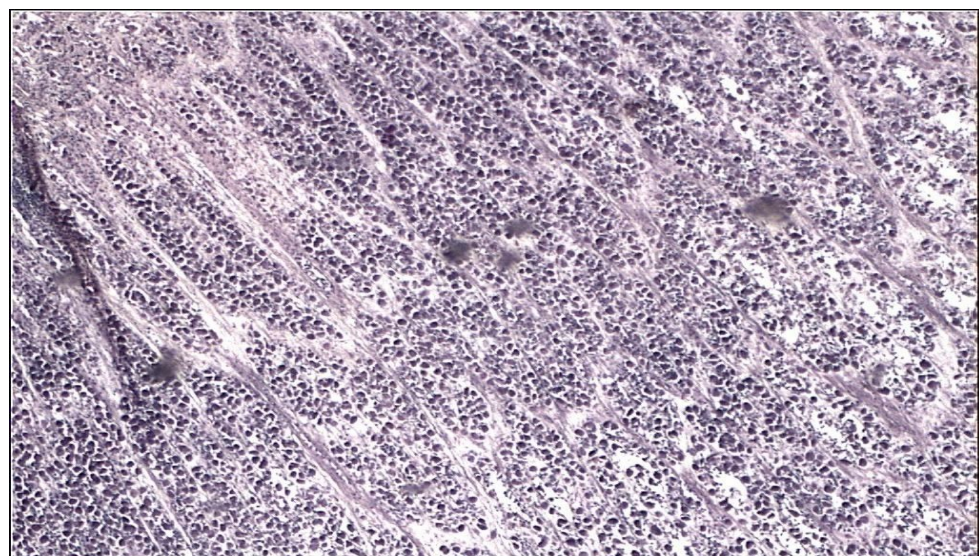
Grafikon 18. Značajnost razlike GLO pozitivnih i nespecifičnih gastritisa u ekstenzivnom uzgoju
(nema značajnosti razlike)

5.4. Reprezentativni histološki nalazi želuca svinja

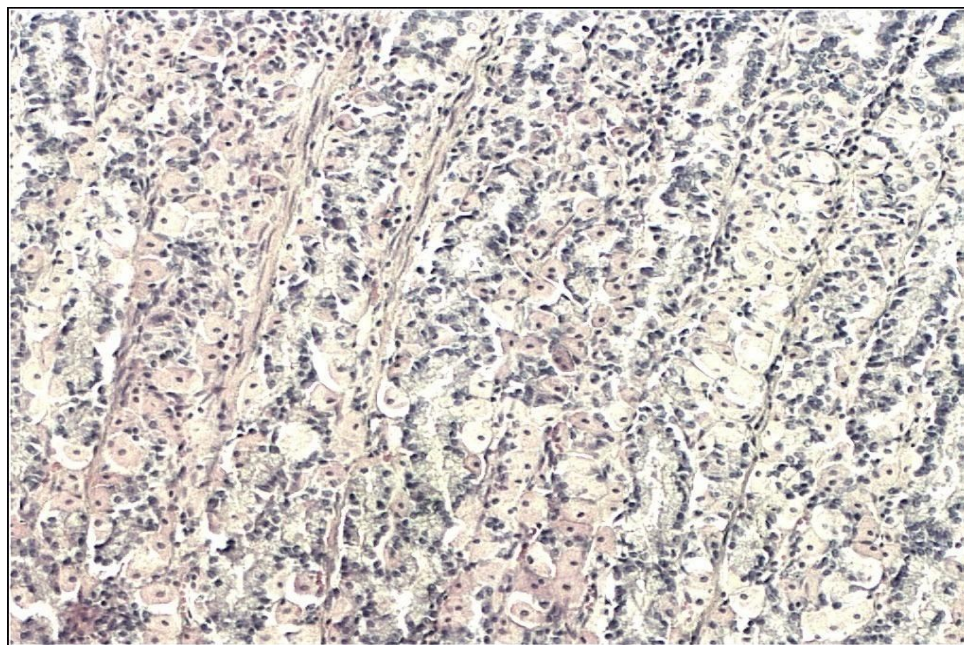
A). Histološki prikaz normalne strukture želudačne mukoze svinja



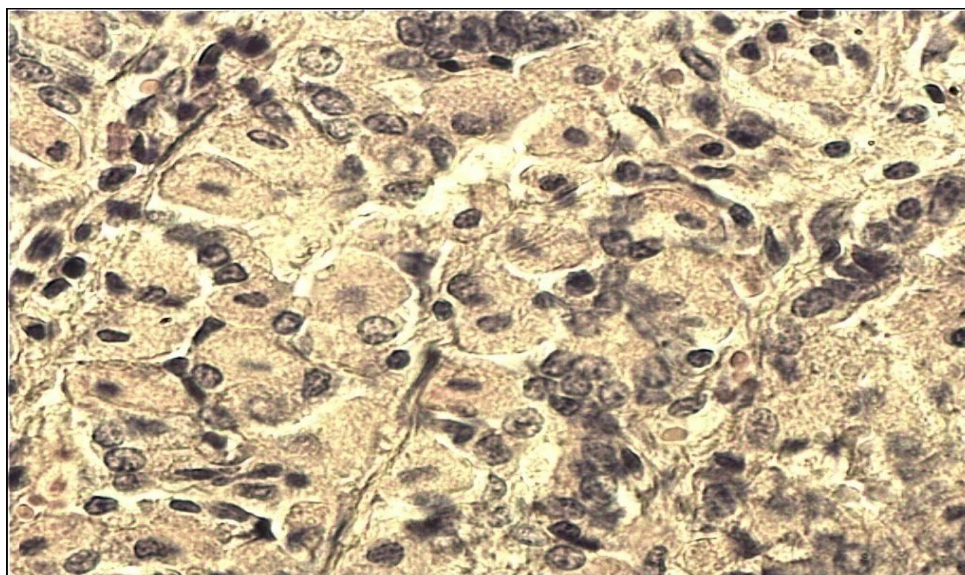
Slika 10. Normalna mukoza neglandularnog dela želuca - pars esophagea: pločasto-slojeviti epitel, bez infiltracije sa limfocitima i plazma ćelijama u l. propria, bez elongacija papila (H&E, 40X)



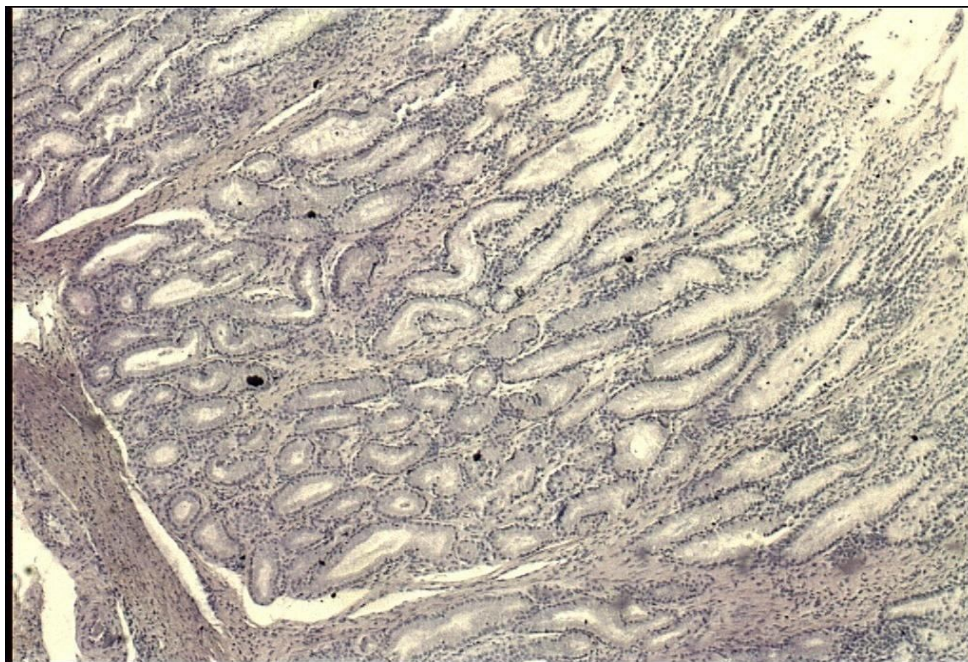
Slika 11. Normalna mukoza glandularnog dela želuca – pars fundica, bez inflamacija (H&E, 40X)



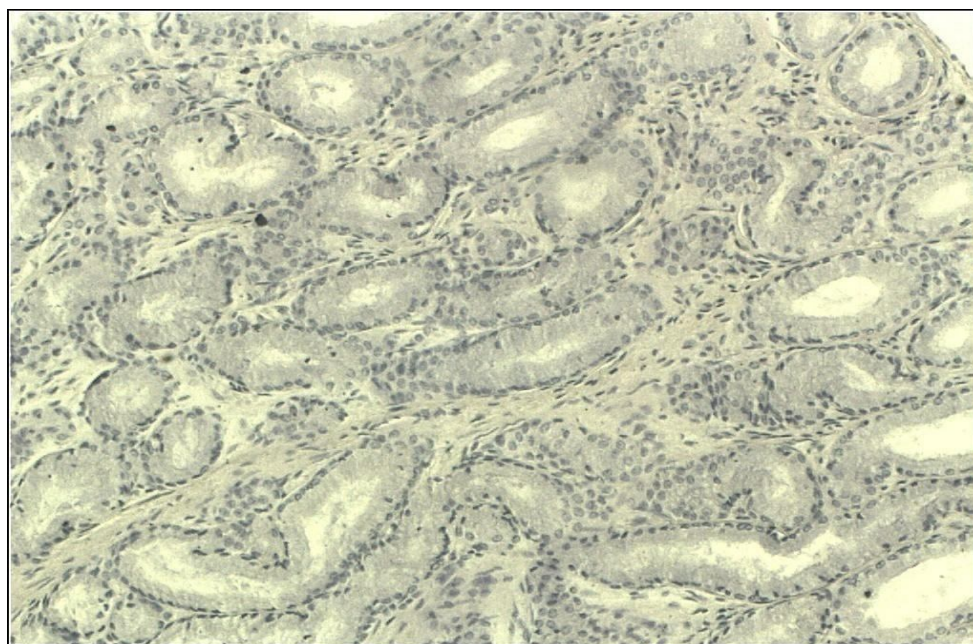
Slika 12. Normalna mukoza pars fundica – lamina propria bez infiltracije limfocita i plazma ćelija (H&E, 100X)



Slika 13. Žlezdani region pars fundica: parijetalne (acidogene) ćelije: piramidalni oblik, centralno postavljeno jдро, acidofilna citoplazma; glavne (pepsinogene) ćelije: manje od parijetalnih, bazalno postavljeno jдро, (H&E, 400X)

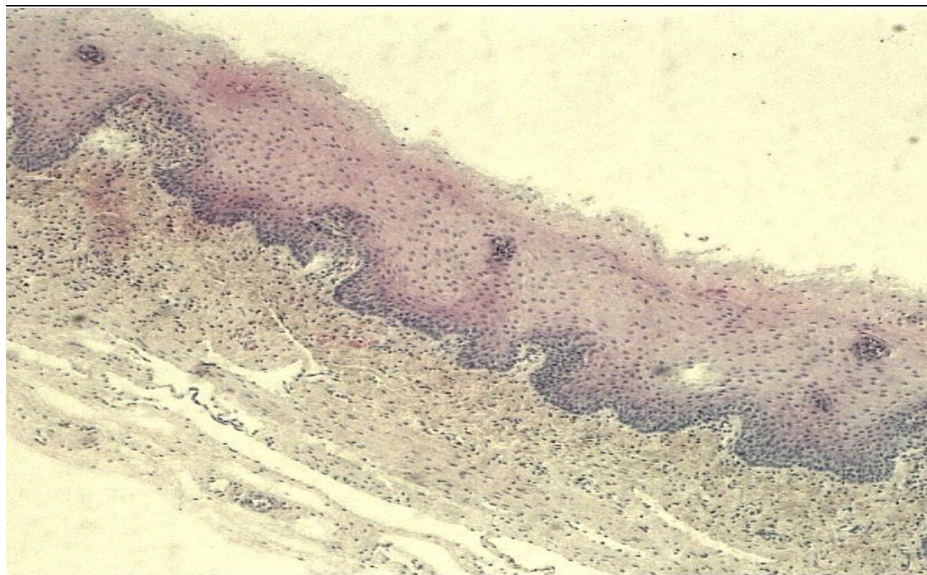


Slika 14. Normalna mukoza pars pylorica: jednoslojni cilindrični epitel, bez infiltracije limfocita i plazma ćelija u l. propria (H&E, 40X)

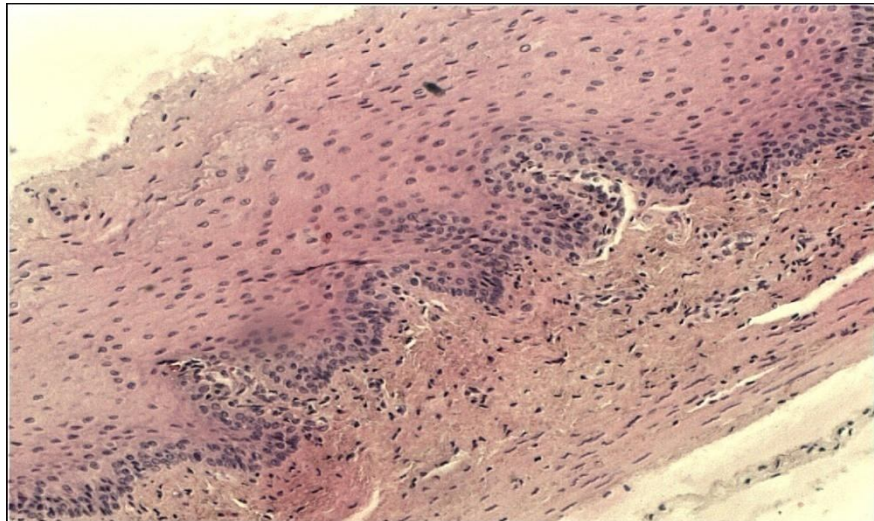


Slika 15. Tubularne mukozne žlezde u lamina propria pars pylorica (H&E, 100X)

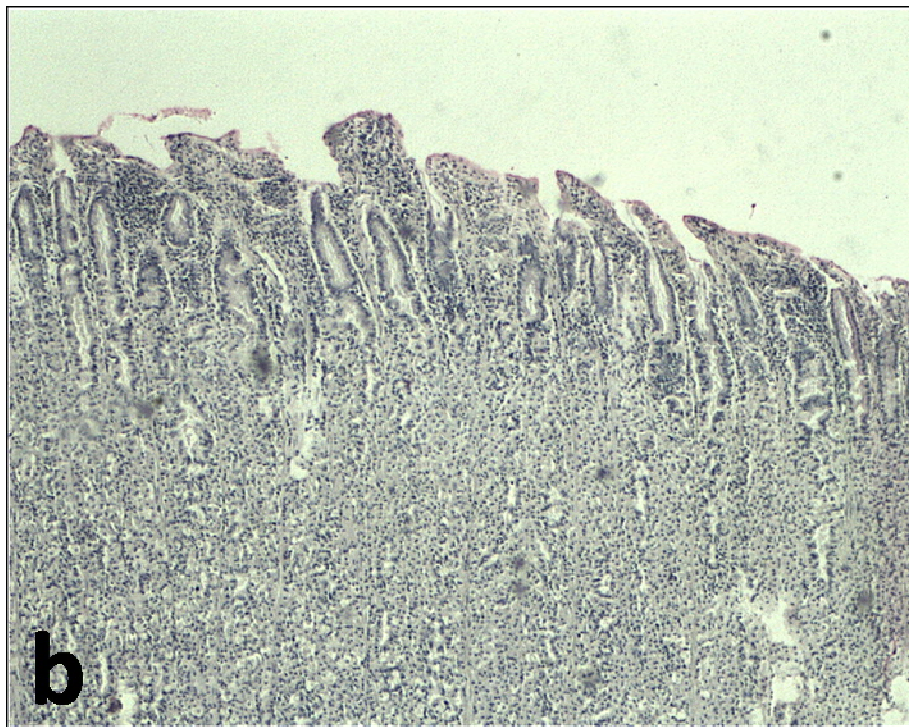
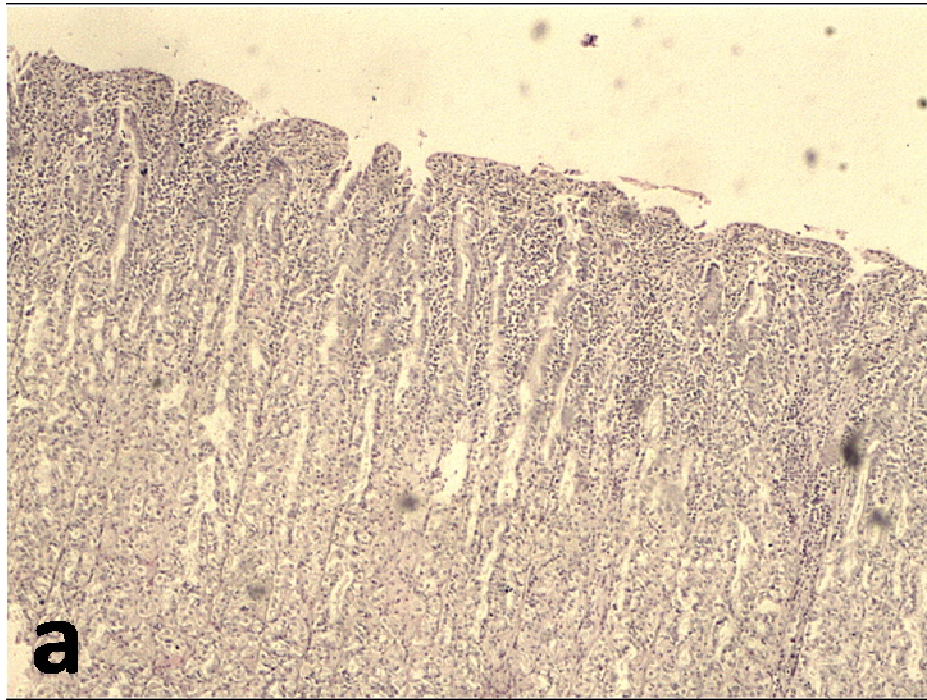
B). Histološki prikaz želudačne mukoze svinja sa identifikovanom bakterijom GLO morfologije (blagi stepen inflamacije - 1 stepen)



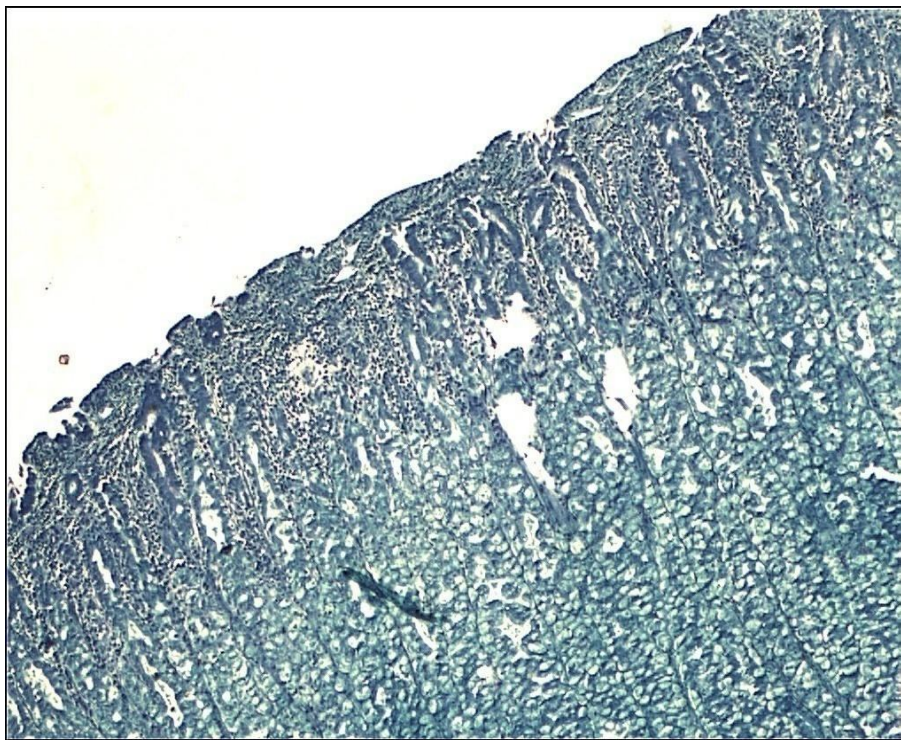
Slika 16. Blagi stepen inflamacije neglandularnog dela želuca – pars oesophagea: blaga infiltracija l. propria sa limfocitima i plazma ćelije, blaga hiperplazija bazalnog sloja (H&E 40X)



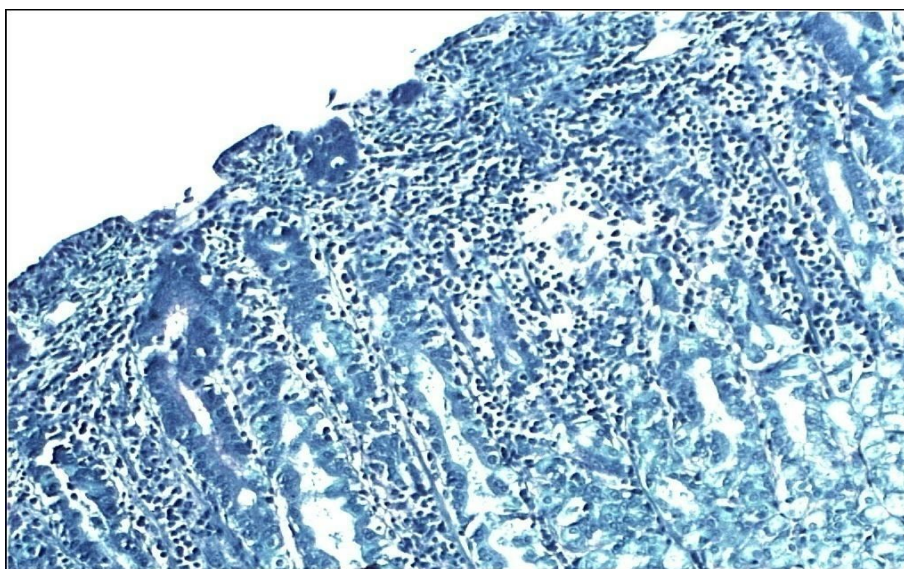
Slika 17. Blagi stepen inflamacije neglandularnog dela želuca – pars oesophagea (H&E 100X)



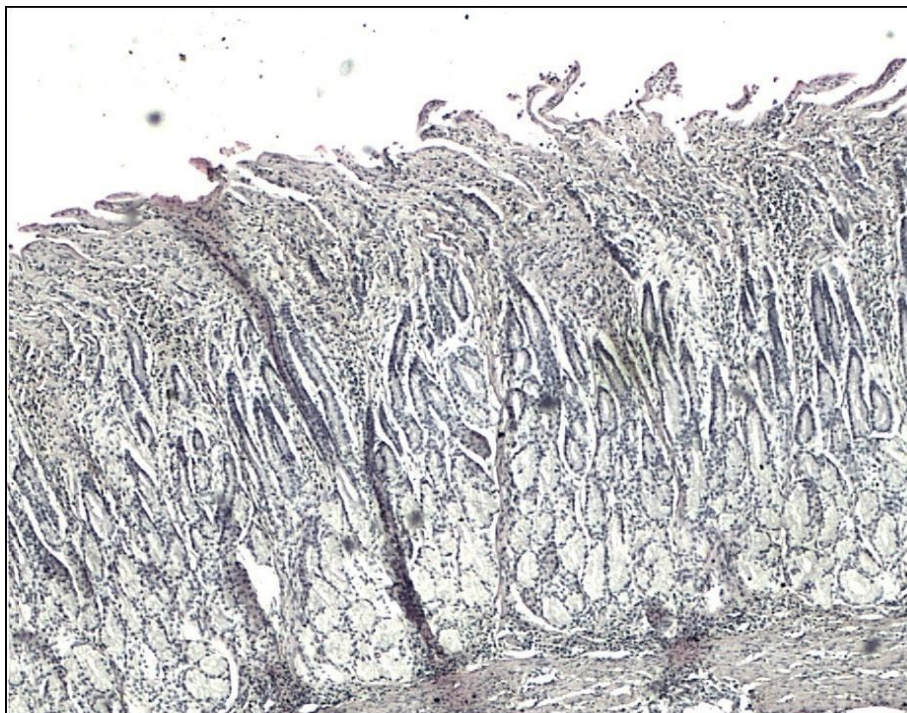
Slika 18a i b. Superfijalna infiltracija pars fundica sa inflamatornim infiltratom, bez površinskih erozija epitela (H&E 40X)



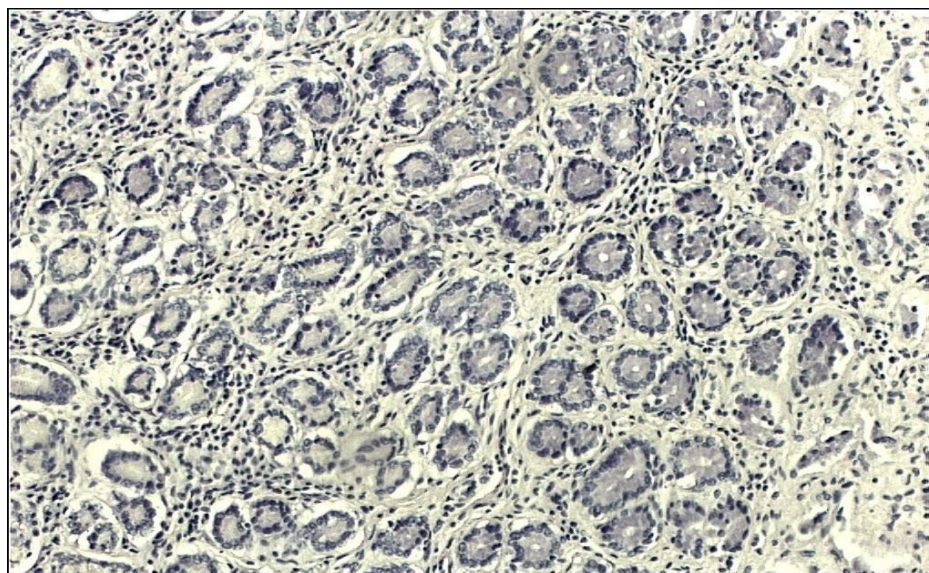
Slika 19. Superficialna infiltracija pars fundica sa inflamatornim infiltratom, bez površinskih erozija epitela (modifikovana Giemsa 40X)



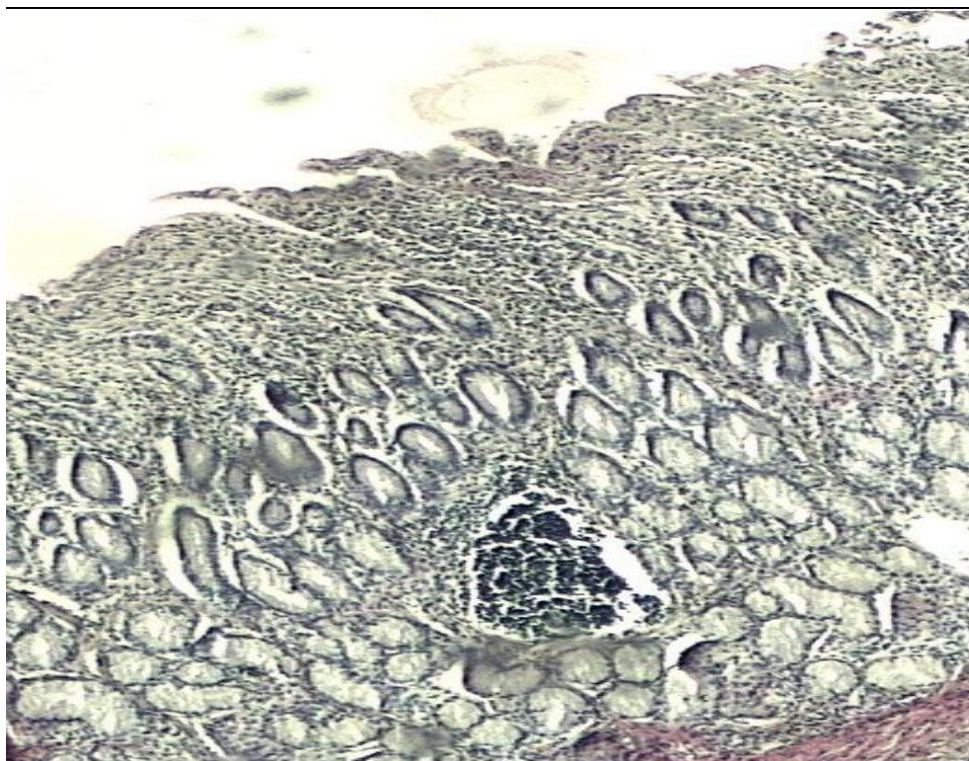
Slika 20. Superficialna infiltracija pars fundica sa inflamatornim infiltratom, bez površinskih erozija epitela (modifikovana Giemsa 100X)



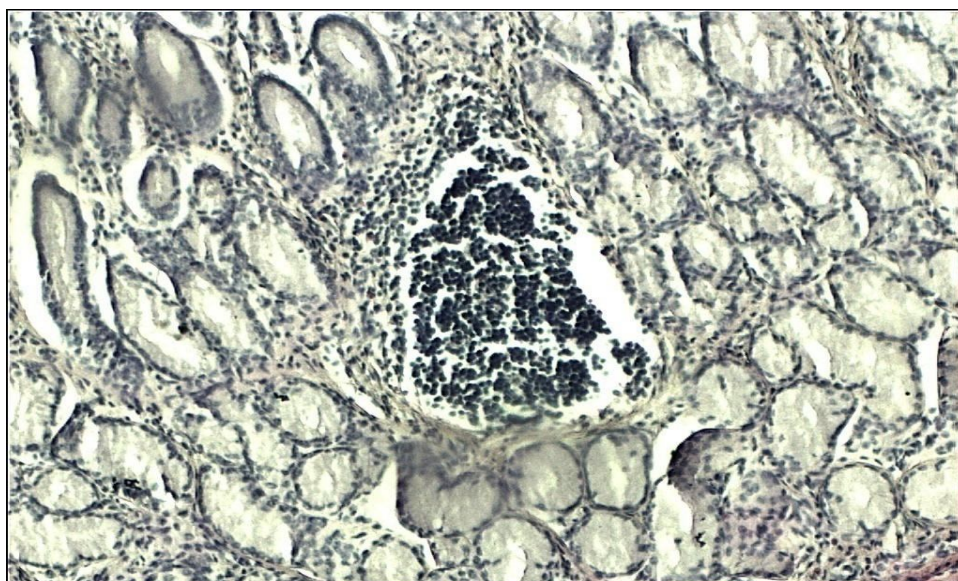
Slika 21. Superficialna infiltracija pars pylorica sa inflamatornim infiltratom, bez erozije epitela (H&E 40X)



Slika 22. Blagi stepen inflamacije pars pylorica: blaga infiltracija l. propria sa limfocitima i plazma ćelije (H&E 100X)

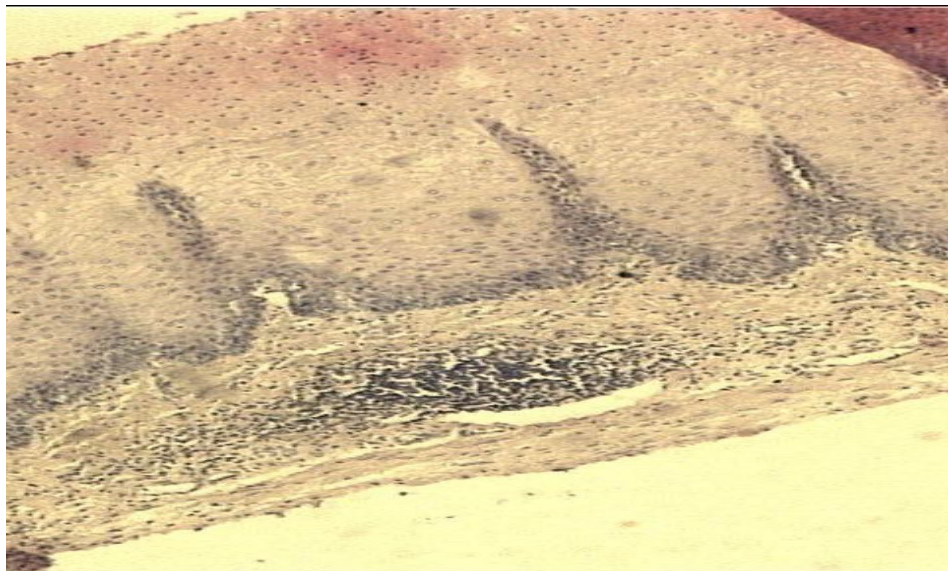


Slika 23. Limfni folikul u donjoj trećini lamina propria, u blizini l. muscularis mucosae pars pylorica (H&E, 40X)

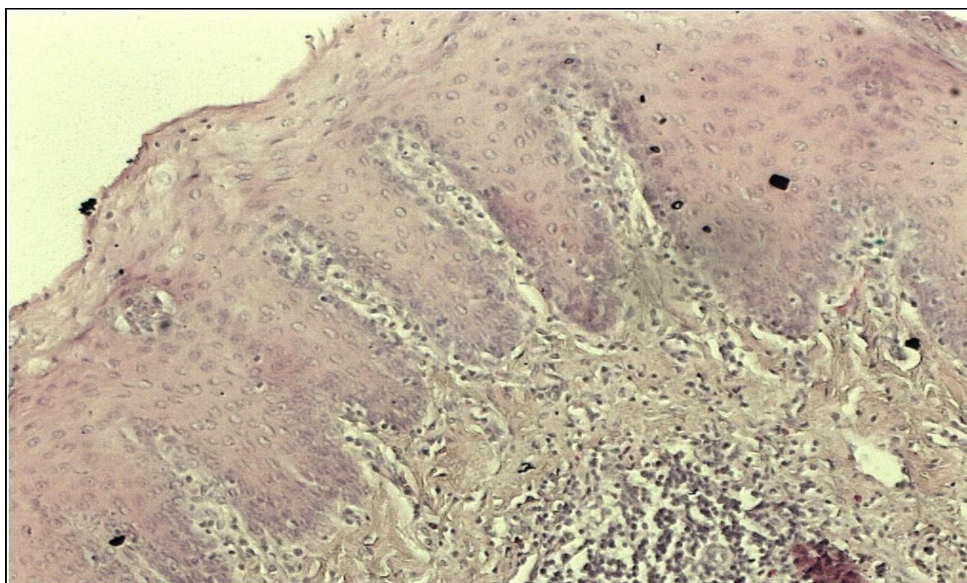


Slika 24. Limfni folikul u donjoj trećini lamina propria pars pylorica (H&E, 100X)

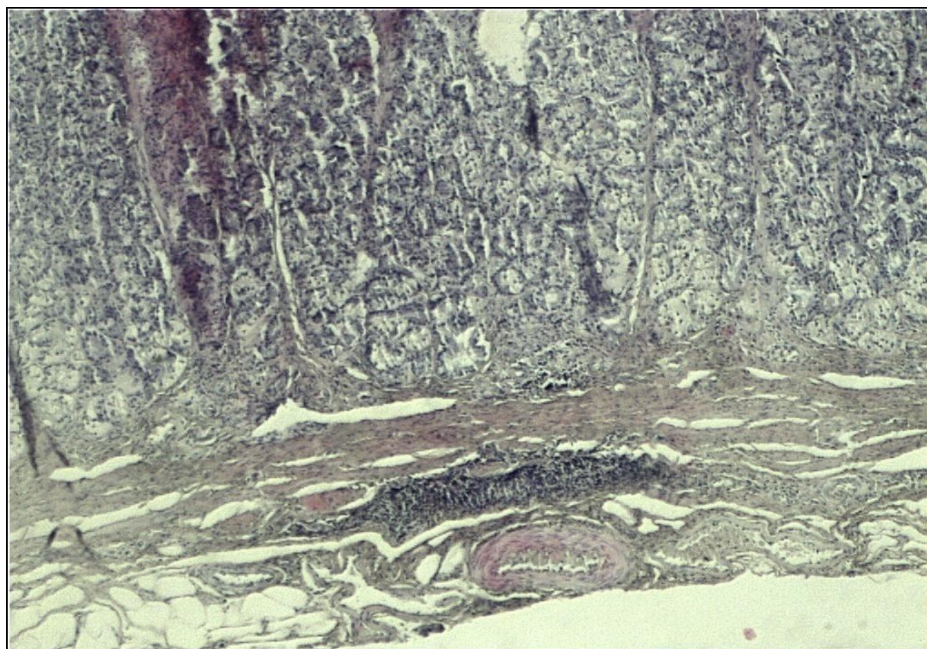
C). Histološki prikaz želudačne mukoze svinja sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije (umereni stepen gastritisa – 2 stepen)



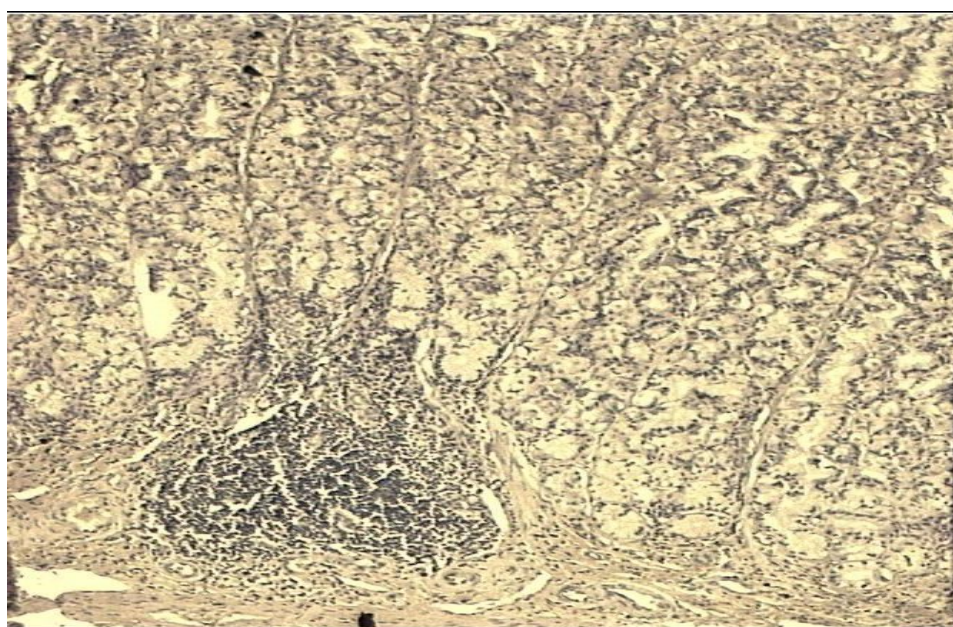
Slika 25. Umereni stepen inflamacije neglandularnog dela želuca – pars oesophagea: fokalna infiltracija l. propria sa limfocitima i plazma ćelije, umerena elongacija papila (H&E 40X)



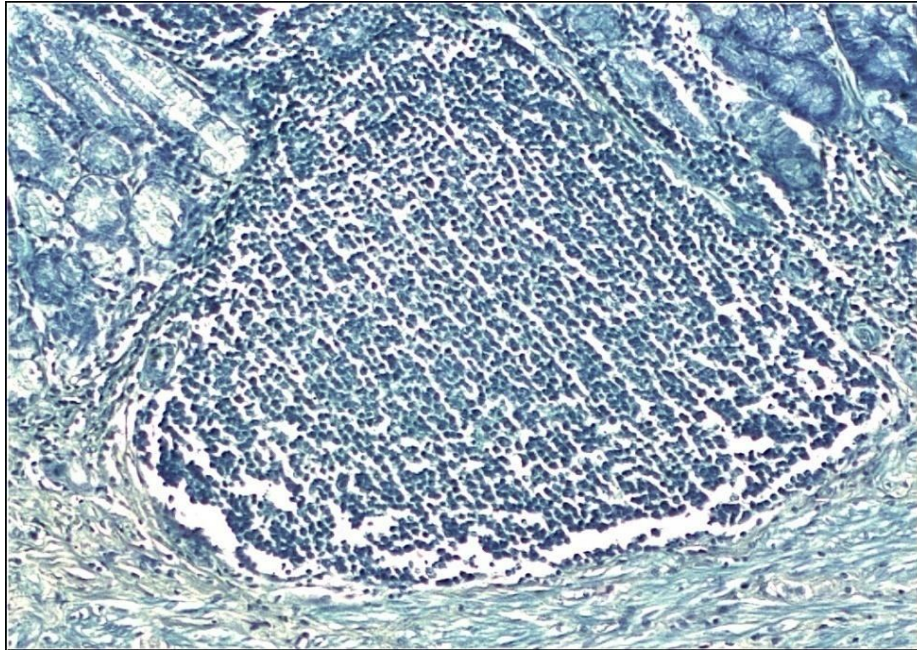
Slika 26. Umereni stepen inflamacije neglandularnog dela želuca – pars oesophagea: fokalna infiltracija l. propria sa limfocitima i plazma ćelije, elongacija papilla > 75% od ukupne debljine epitela (H&E 40X)



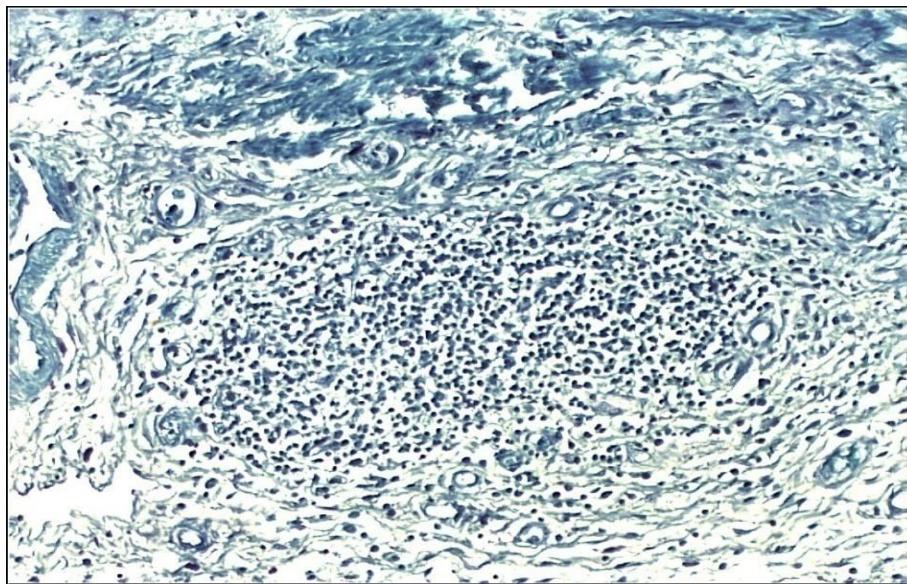
Slika 27. Pars fundica: fokalna infiltracija sa limfocitima i plazma ćelijama ispod lamina muscularis mucosae (H&E, 100X)



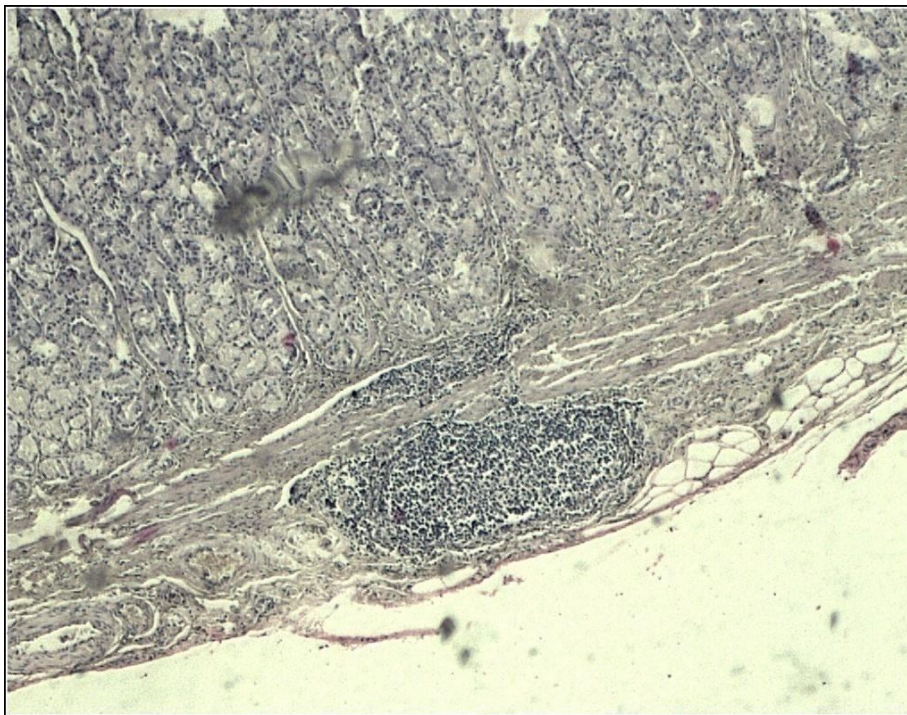
Slika 28. Pars fundica: Umerena infiltracija lamina propria sa limfocitima i plazma ćelijama, limfni folikul iznad lamina muscularis mucosa (H&E 40X)



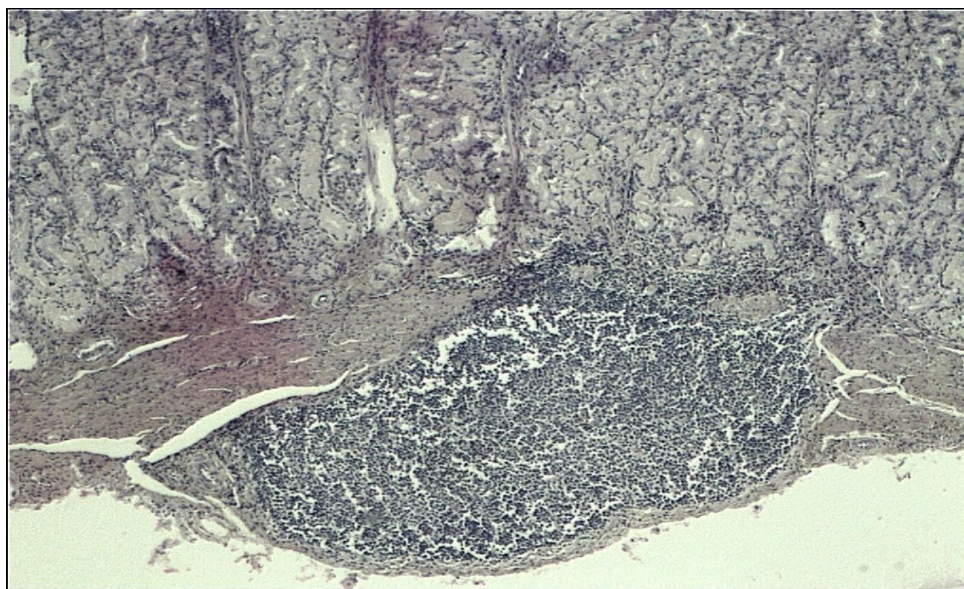
Slika 29. Pars fundica: Limfni folikul iznad lamina muscularis mucosae (modifikovana Giemsa, 100X)



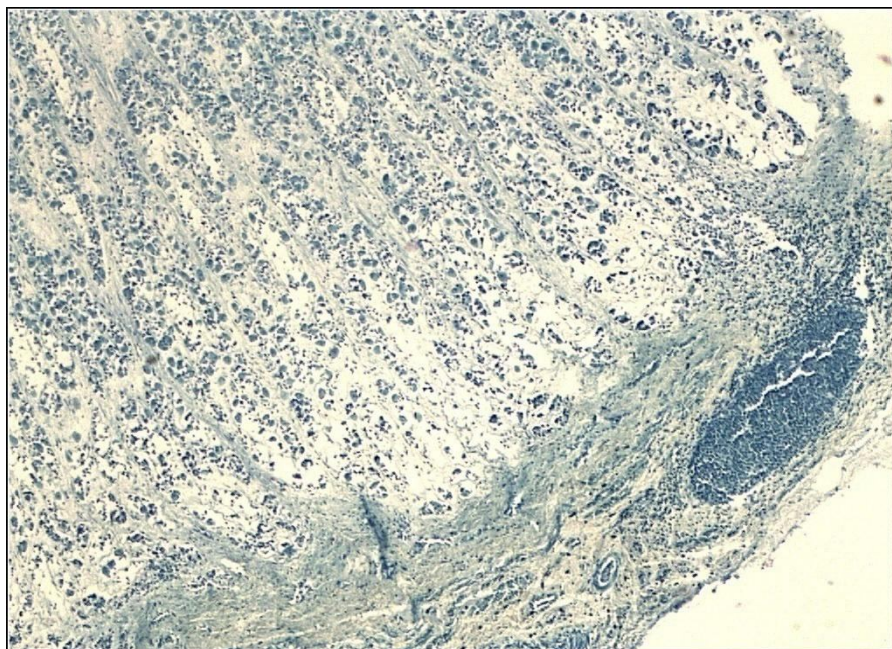
Slika 30. Inflamatorni infiltrat unutar lamina muscularis mucosa pars fundica (modifikovana Giemsa, 100X)



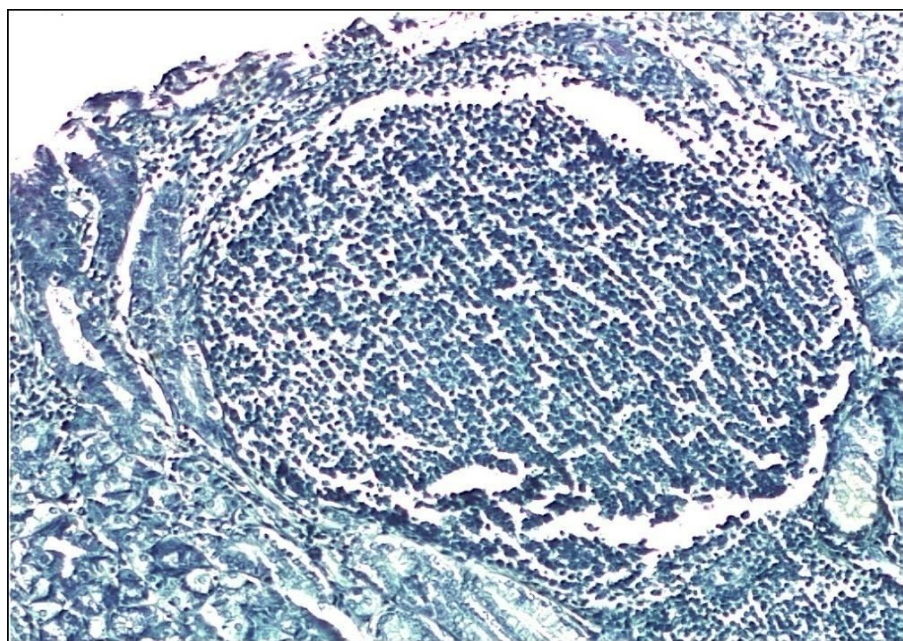
Slika 31. Pars fundica: Limfni folikul unutar lamina muscularis mucosae (H&E, 40X)



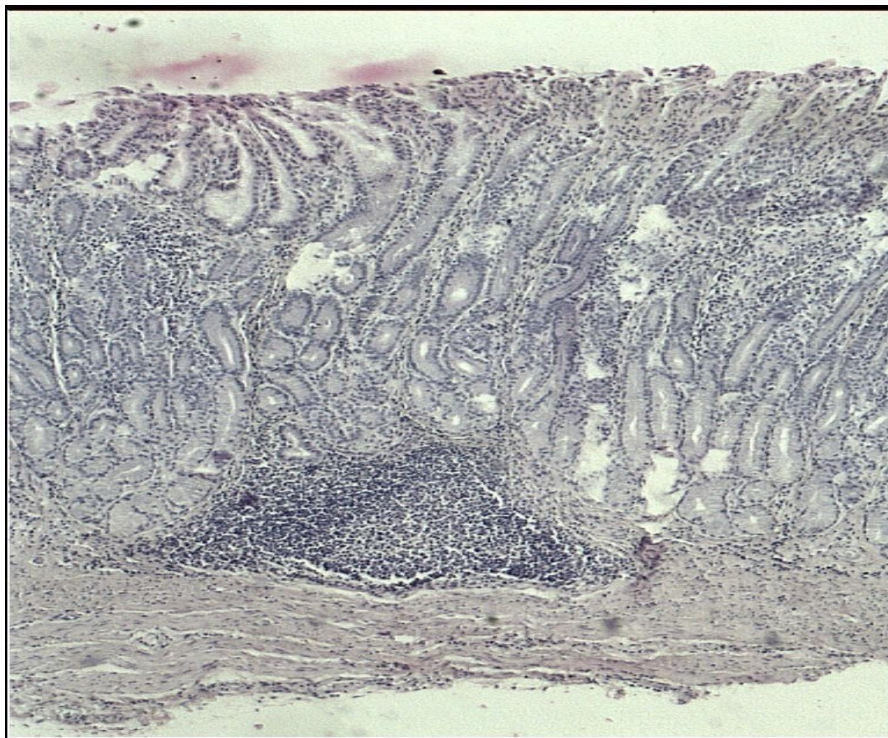
Slika 32. Pars fundica: Limfni folikul unutar lamina muscularis mucosae (H&E, 100X)



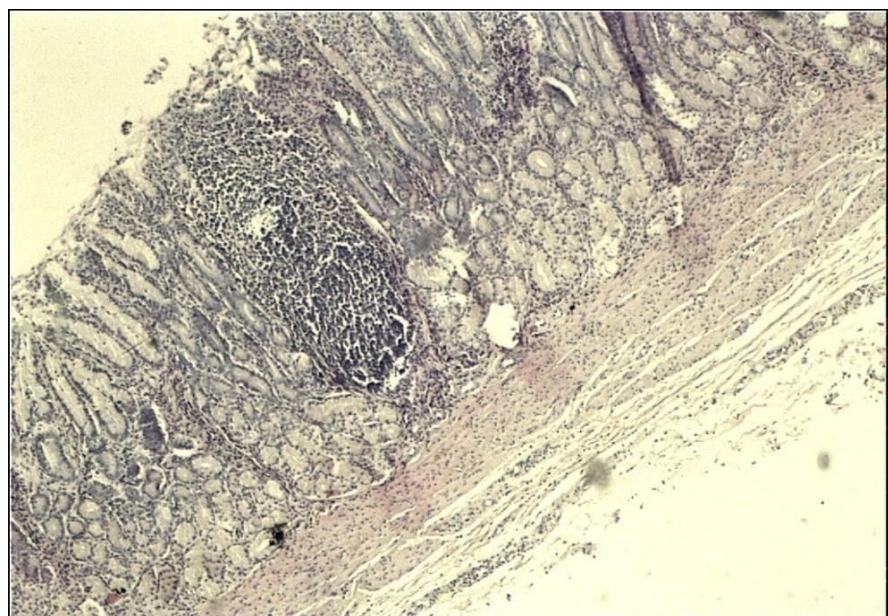
Slika 33. Limfni folikul unutar lamina muscularis mucosa pars fundica (modifikovana Giemsa, 40X)



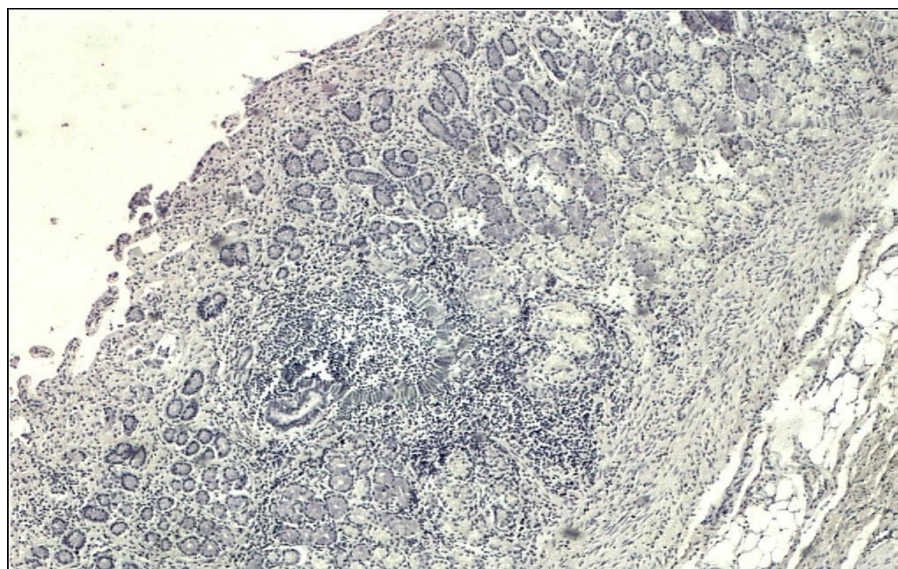
Slika 34. Pars fundica: limfni folikul ispod lamina epihelialis, bez oštećenja površinskog epitela (modifikovana Giemsa, 100X)



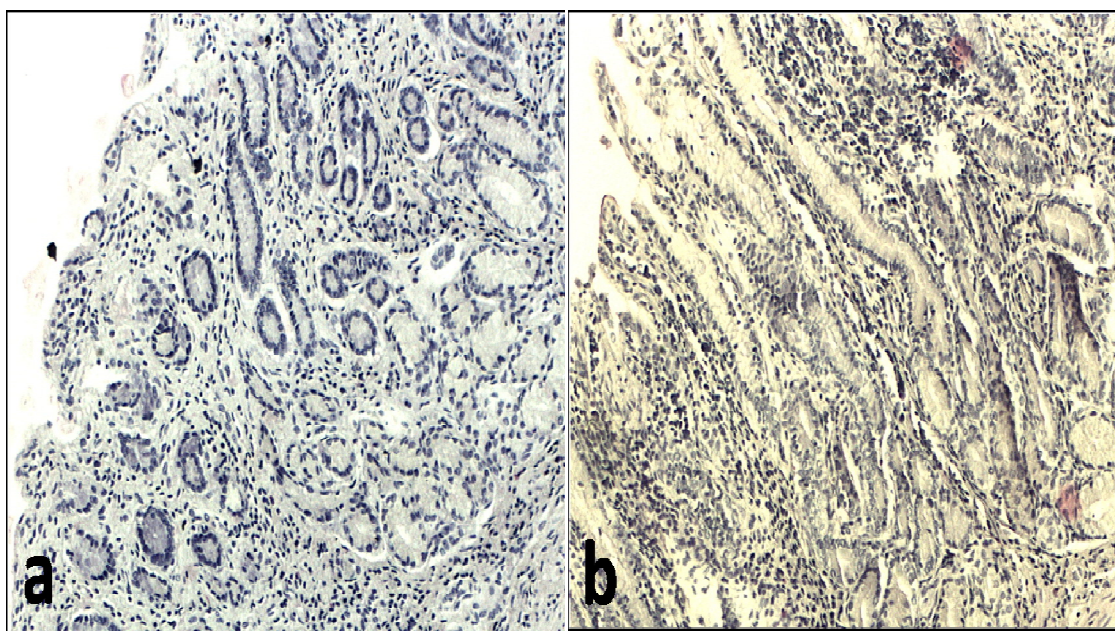
Slika 35. Pars pylorica: Fokalni inflamatorni infiltrat iznad lamina muscularis mucosae (H&E 40X)



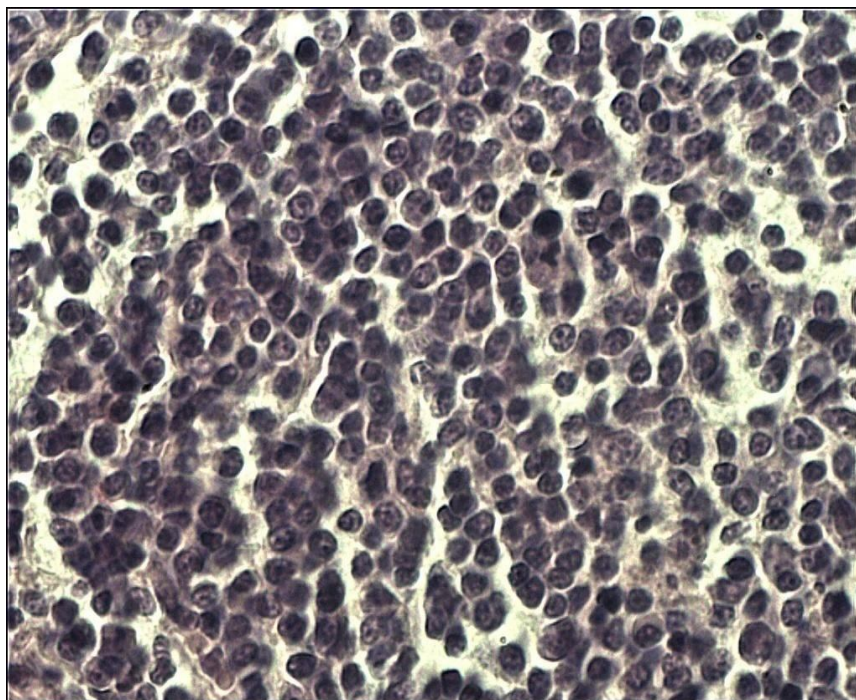
Slika 36. Pars pylorica: Fokalna infiltracija limfocita i plazma ćelije unutar lamina propria (H&E 40X)



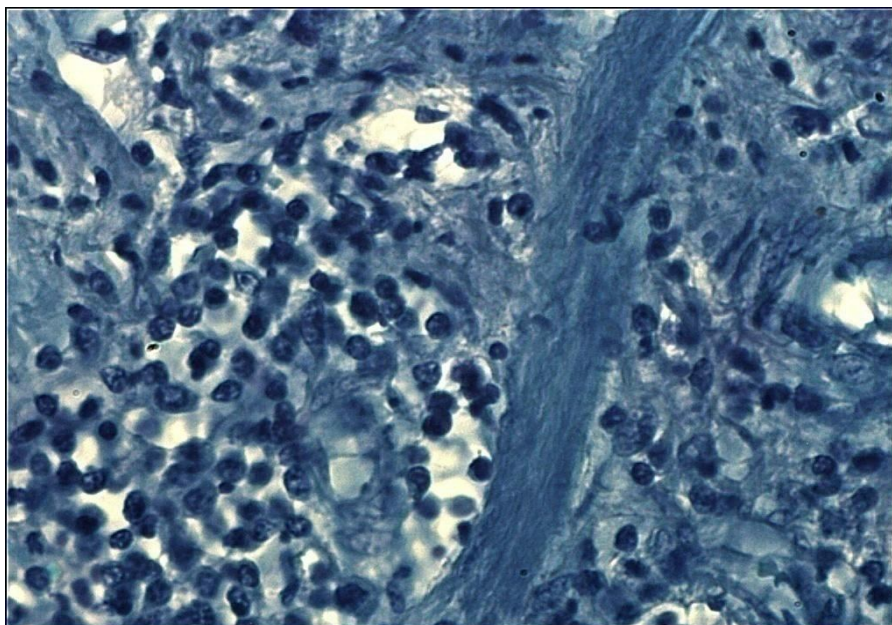
Slika 37. Difuzna infiltracija limfocita i plazma ćelije unutar l. propria pars pylorica (H&E 40X)



Slika 38 a i b. Difuzna infiltracija limfocita i plazma ćelije unutar l. propria pars pylorica (H&E 100X)

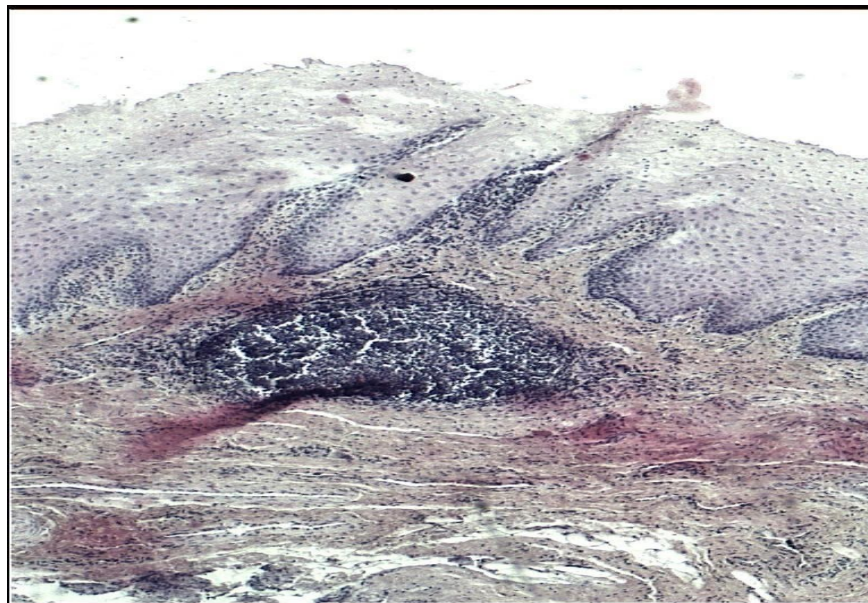


Slika 39. Inflammatory infiltrate, lymphocytes and plasma cells (H&E, 400X)

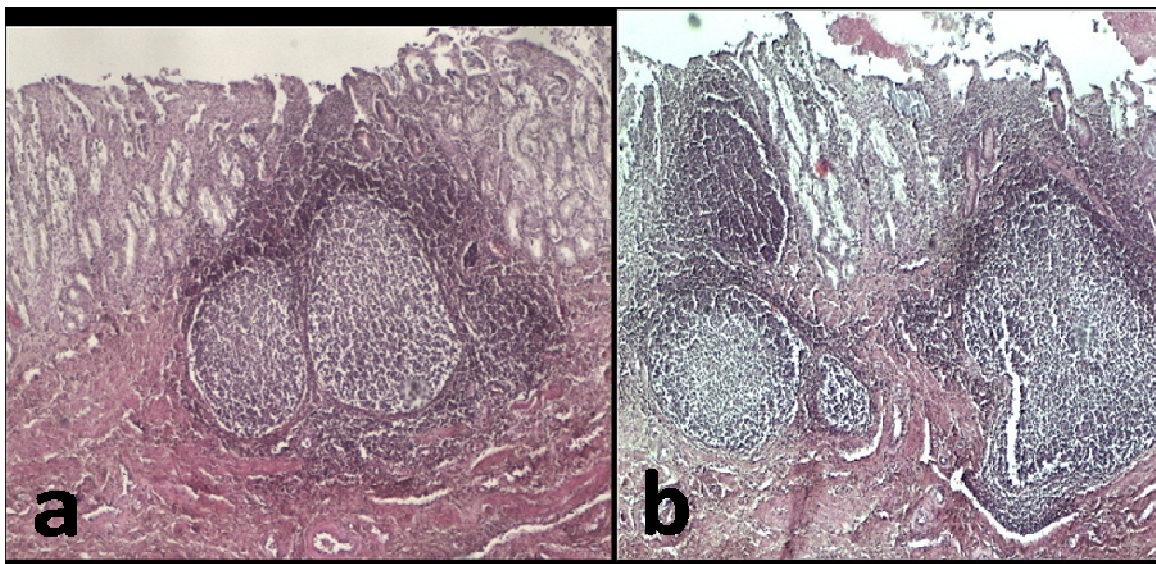


Slika 40. Inflammatory infiltrate, lymphocytes and plasma cells (modified Giemsa 400X)

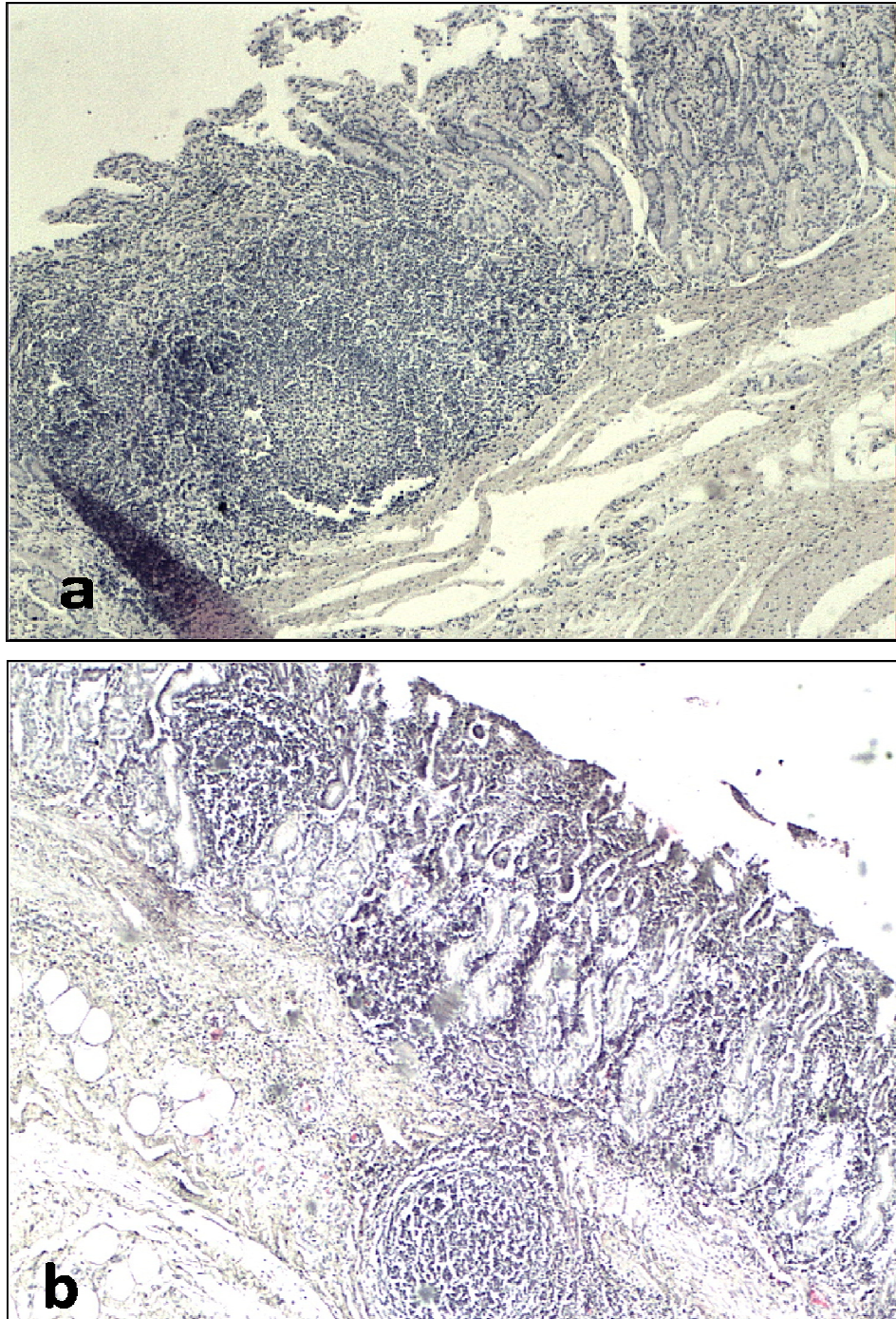
D). Histološki prikaz želudačne mukoze svinja sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije (ozbiljni stepen gastritisa - 3 stepen)



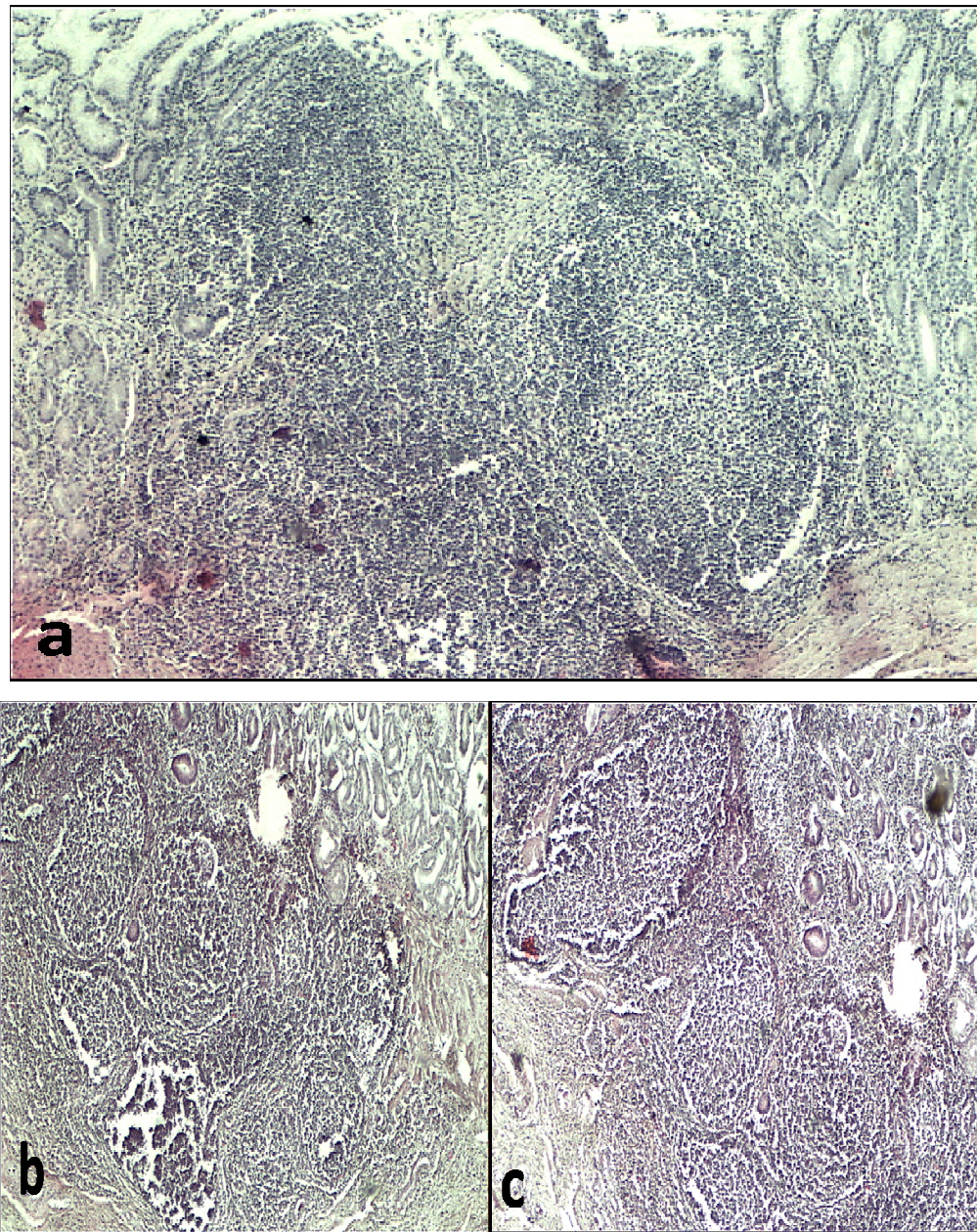
Slika 41. Ozbiljni stepen inflamacije neglandularnog dela želuca – pars oesophagea: Limfni folikul u lamina propria, elongacija papilla > 75% od ukupne debljine epitela (H&E 40X)



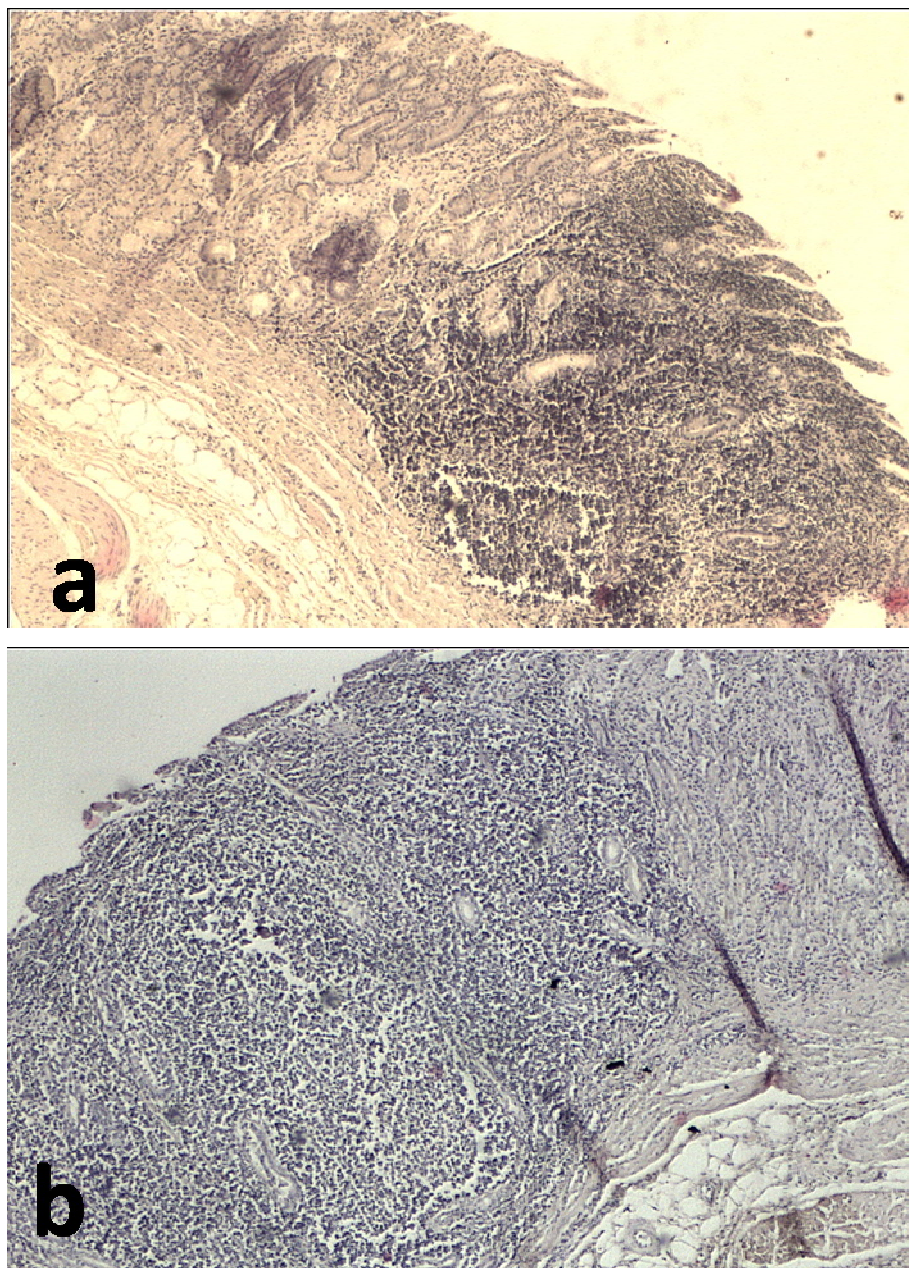
Slika 42a i b. Pars cardiaca: ozbiljni stepen inflamacije sa prisustvom limfnih folikula u lamina propria (H&E 40X)



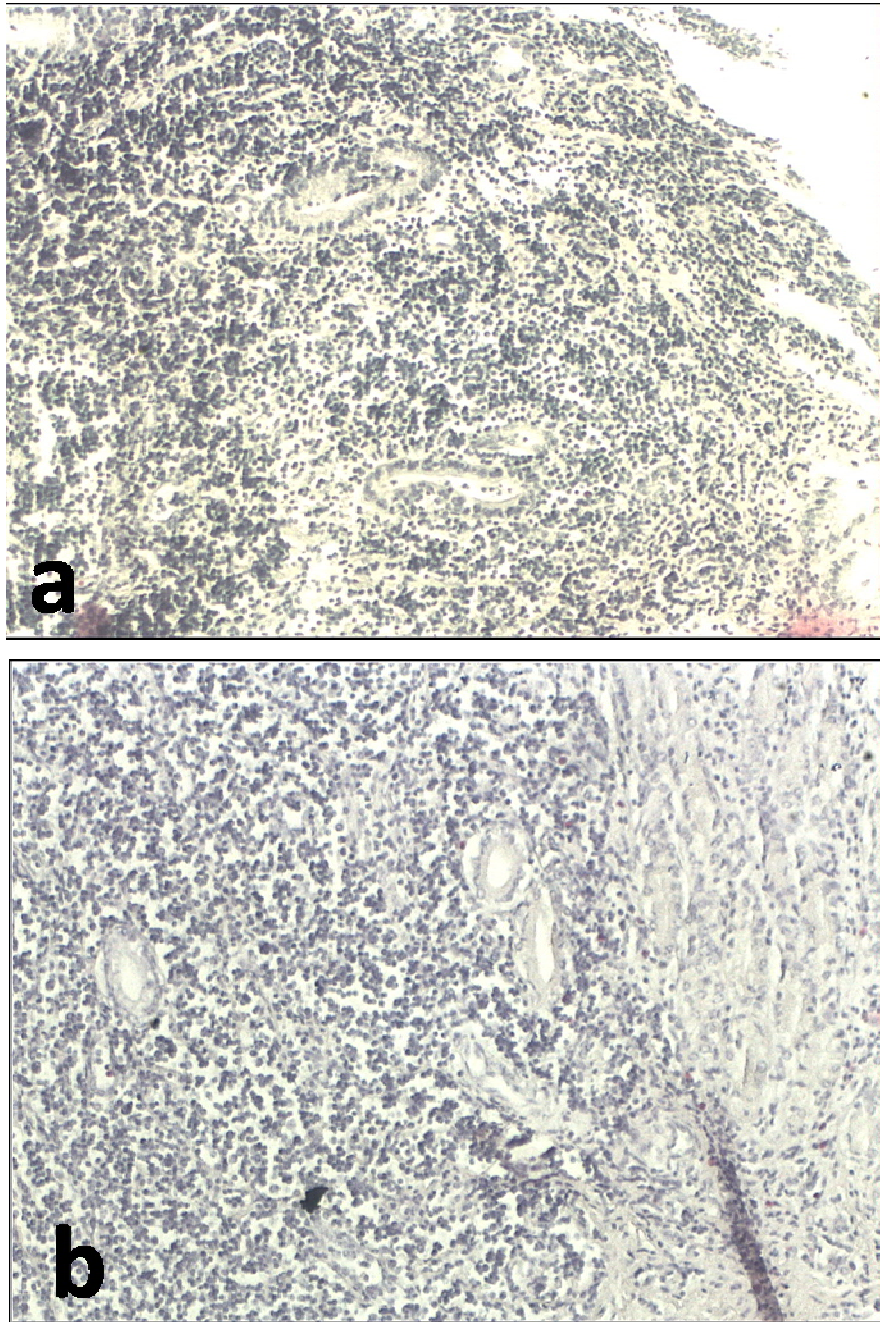
Slika 43a i b. Pars pylorica: ozbiljni stepen inflamacije bez oštećenja površinskog epitela, sa prisustvom limfnih folikula sa germinativnim centrom u lamina propria (H&E 40X)



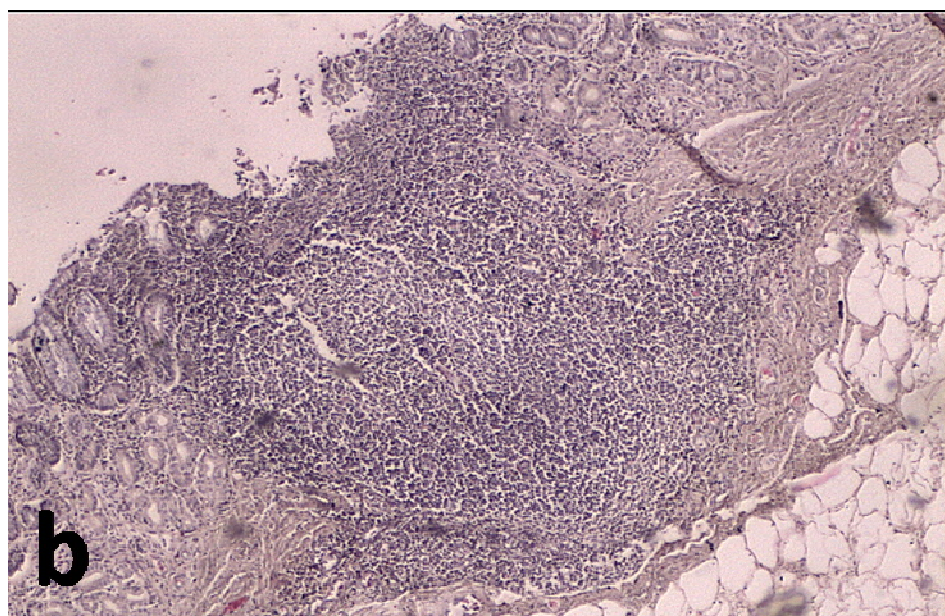
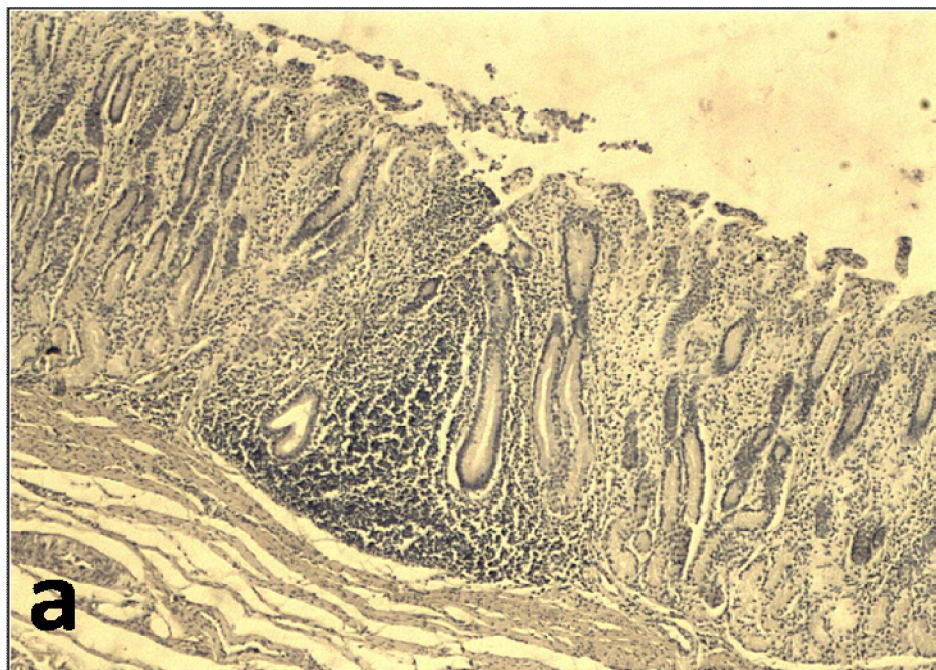
Slika 44a,b i c. Ozbiljni stepen inflamacije i limfni folikuli sa germinativnim centrom u lamina propria pars pylorica (H&E 100X)



Slika 45a i b. Pars pylorica: ozbiljni stepen inflamacije bez oštećenja površinskog epitela, sa difuznom infiltracijom limfocita i plazma ćelija u lamina propria i separacijom piloričnih žlezda (H&E 40X)



Slika 46a i b. Pars pylorica: ozbiljni stepen inflamacije sa difuznom infiltracijom limfocita i plazma ćelija i separacijom glandulae pyloricae (H&E, 100X)



Slika 47a i b. Pars pylorica: ozbiljni stepen inflamacije sa erozijom površinskog epitela, difuznom infiltracijom limfocita i plazma ćelija u lamina propria i separacijom glandulae pyloricae (H&E 40X)

6. DISKUSIJA

6.1. Prevalenca, morfološka identifikacija i semikvantitativna evaluacija bakterija *Helicobacter speciesa* HLO i GLO morfologije kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način

U ovom su radu po prvi put u Republici Makedoniji dokazane su bakterije u želucu svinja i to i morfologije *H. pylori* kao i morfologije *Gastrospirillum*-a (*H. suis*).

U prvom izveštaju o infekciji životinja sa *H. pylori*, Jones D.M. i Elridge J. (1990) navode da su iz želuca svinja izolovali soj *H. pylori* i pretpostavljaju da svinja može biti smatrana mogućim rezervoarom ove bakterije. Eaton K.A. i sar. (1990) i Engstrand L. et al. (1990) su podržali ovu hipotezu, međutim De Groote D. et al., (1999) su sekvencionirali 16S rDNA i bakteriju nazvali *H. suis*. Detaljnom analizom prethodnih studija Mégraud F. i Broutet N. (2000) su došli do zaključka da svinje nisu rezervoar *H. pylori* i da bakterije izolovane od strane Jones D.M. i Elridge J. (1990) su verovatno humanog porekla, naknadno stečene kod svinja. Perzistentna kolonizacija gastrične mukoze i uspostavljanje *H. pylori* infekcije eksperimentalnim putem ustanovljeno je kod gnotobiotskih prasića (Krakowka S, i sar., 1987; Lambert J.R, i sar., 1987), barrier-born prasića (Engstrand L, et al., 1990), minijturnih prasića (Koga T, i sar., 2002), nehumanih primata (Shuto R, et al., 1993; Dubois A, i sar., 1996) gnotobiotskih pasa (Radin M.J, i sar., 1990), konvencionalnih pasa (Rossi G, i sar., 1999), SPF (specific-pathogen free) mačaka (Fox J.G, i sar., 1995), miševa (SPF, germ-free, atimični, transgenični) (Guruge J.L, i sar., 1998), SPF Mongolskih gerbila (Ikeno T, i sar., 1999), pacova (Li H, i sar., 1999) i zamoraca (Shomer N.H, i sar., 1998). Nije bilo ustanovljeno da su konvencionalne svinje podložne *H. pylori* infekciji (Krakowka S, i sar., 1990) i svi pokušaji uspostavljanja *H. pylori* infekcije kod konvencionalno uzgajanih svinja su bili bezuspešni (Krakowka S, i sar., 1987; Zinner M.J, i sar., 1987; Korber-Golze V.B, Scupin E, 1993). Godine 2001., Poutahidis T. i sar. (2001) su uspeli eksperimentalnim putem da uspostave infekciju sa *H. pylori* kod konvencionalno uzgajanih prasića. Krakowka S. i sar. (2005), pomoću mikrobioloških

metoda, su uspjeli izolovati 2 izolata ureaza i katalaza pozitivne, mikroaerofilne, male, zakrivljene bakterije iz želuca konvencionalno uzgojenih prasića. Oba izolata (označeni kao 2662,1268) su morfološki veoma slična sa *H. pylori* izolovanim kod čoveka, ali morfološki različiti od spiralnog *H. heilmannii*. Kao što nadalje objavljuju Krakowka S. i sar. (2005a), izolat 2662 izaziva prominentne inflamacije želuca i ulceracije nakon oralne inokulacije kod gnotobiotskih prasića. Gnotobiotski prasići inokulisani izolatom 1268, razvijaju jedino minimalna inflamatorna oštećenja želuca.

Prisustvo spiralnih bakterija u želucu životinja, po prvi put je opisao Rappin J. (1881) i Bizzozero G. (1893). „*Gastrospirillum like*”- organizmi su identifikovani i u želucu čoveka, ali sporadično (Heilmann K.L, Borchard F, 1991). Postoje najmanje 2 tipa spiralnih bakterija, koji su na osnovu filogenetskih istraživanja nazvani „*Helicobacter heilmanni*” tip 1 i 2 (Solnick J.V, i sar., 1993). Takođe kod svinja su zapažene 2 različite „*Gastrospirillum like*” bakterije. Mendes E.N. i sar. (1994) su dokazali 99.5% homologiju 16SrDNA sekvence *Helicobacter heilmann* tipa 1 i „*Candidatus Helicobacter suis*”, što ukazuje da oba organizma pripadaju istoj vrsti. Rezultati rada Roosendaal R. i sar. (2000) ukazuju da je *H.heilmannii* tip 1 dominantni stanovnik *Helicobacter* speciesa u želucu svinja, dok su *H. trogontum*, *H. bilis* i *H. pullorum* identifikovani veoma retko (Roosendaal R, i sar., 2000; Hänninen M.L, et al., 2003). Glavni predstavnik *Helicobacter* speciesa koji kolonizira želudac svinja je *H. suis*, a prevalenca ove bakterije zavisi od uzrasta životinje, kao i od geografskog područja (Hellemans A, i sar., 2007; Kopta L.A, i sar., 2010). Međutim svinje nisu jedini mogući domaćin *H. suis*. Ova bakterija je detektovana i u gastričnim bioptatima čoveka, i to mnogo češće od ostalih gatsričnih ne *H. pylori* *Helicobacter* vrsta (NHPH), a dovodi se u vezu sa pojavom gastričnih bolesti kao što su gastritis, gastrični ulcer i gastrični kancer (Haesebrouck F, et al., 2009). Sumju da *H. suis* ima zoonotski potencijal i da postoji mogućnost prenosa sa svinje na čoveka, potvrđuju Joosten M. i sar. (2013) nalazima spiralne bakterije u želucu veterinara koji je bio u permanentnom kontaktu sa svinjama.

U našem radu za identifikaciju bakterija *Helicobacter spp.* HLO i GLO morfologije koristili smo metodu gastričnog otiska obojenog metilensko-plavim, prema Misra V. i sar. (1994). Rezultati kod svinja iz intenzivnog načina uzgoja, govore o prevalenci bakterija *Helicobacter spp.* od 15% (9/60), od kojih su 6.67% (4/60) bakterije HLO morfologije, a 8.33% (5/60) su bakterije GLO morfologije (Tabela 1). U grupi svinja uzgajanih na ekstenzivni način, prevalenca *Helicobacter spp.* je 23.33% (14/60), od kojih 8.33% (5/60) su bakterije HLO

morfologije, a 15% (9/60) su bakterije GLO morfologije (Tabela 2). Suprotno zapažanjima Queiroz D.M. i sar. (1990) i Grasso G.M. i sar. (1996) kod kojih je 10.8% i 9.4% životinja bilo kolonizovano ovom bakterijom. Cantet F. i sar. (1999) kombinovanjem rezultata histoloških ispitivanja i rezultata PCR-a, došli su do zaključka da je 86.6% svinja bilo pozitivno na *H. heilmannii*. Ova razlika se može objasniti činjenicom da u studijama Queiroz D.M. i sar. (1990) i Grasso G.M. i sar. (1996), za detekciju bakterije se koristilo samo histološko ispitivanje, što je manje senzitivna tehnika od PCR. Međutim, ako uzmemo u obzir samo histološka ispitivanja za detekciju bakterije, Cantet F. i sar. (1999) navode da čak 65% svinja su pozitivne na ovu bakteriju, što korespondira sa nalazima francuskih istraživača (Thiberge J.M, et al., 1997) kod kojih 63% od 60 svinja bilo inficirano *Helicobacter* vrstama. Ovo ukazuje da postoje i drugi nepoznati razlozi zbog kojih je nastala infekcija. Cantet F. i sar. (1999) ističu da veći stepen homogenosti između *Helicobacter* speciesa ima kod svinja nego kod drugih životinja, kao što su pas i mačka (Eaton K.A, et al., 1996; Dieterich C, et al., 1998). Ostaje se dokaže dali je homogenost rezultat izuzetne adaptacije *H. heilmanni* na svinje (kao što je *H. pylori* kod čoveka) ili se javlja tokom procesa selekcije tovnih svinja. Prevalenca infekcije sa *H. heilmannii* kod tovnih svinja iz 6 različitih farmi, utvrđena isključivo histološkim ispitivanjem se kretala od 30 do 80% (Cantet F, et al., 1999). Visoka prevalenca "*Candidatus H. suis*" od 77% u studiji De Groote D. i sar. (2000) dobijena identifikacijom bakterije PCR-om, je u suglasnosti sa rezultatima istraživača koji su u svojim radovima izneli podatak o prevalenci od 88% (Melnichouk S.L, et al. 1999). Epidemiološke studije sprovedene na ljudima, govore o povezanosti visoke prevalence *H. pylori* i loših higijenskih uslova (Hammermeister I, et al., 1992; Parsonnet J, 1995; Bardhan P.K, 1997). Melnichouk S.L. i sar. (1999) ističu da su farme sa SPF životinjama slobodne od "*Candidatus H. suis*", što nije slučaj na farmama gde se životinje uzgajaju na konvencionalni način. Ovi podaci pokreću pitanje o mogućem uticaju faktora stanovanja i upravljanja na industrijskim farmama svinja na transmisiju "*Candidatus H. suis*". U studiji koji su sproveli Ieari E. i sar. (2001) na uzorcima od 7926 pacijenata, prevalenca *H. heilmannii* je bila 0.1%, a prevalenca *H. pylori* je bila 60.7%. Ovakav nalaz je u saglasnosti sa utvrđenom prevalencom u ostalim studijama čiji su predmet ispitivanja slučajevi poreklom iz geografskih područja sa sličnim socioekonomskim prilikama (Dieterich C, et al., 1998; Norris C.R, et al., 1999). Većina pacijenata inficiranih sa spiralnom bakterijom, različite morfologije od *H. pylori*, su bili u neposrednim kontaktom sa psima, mačkama, čak i sa

svinjama, što govori o mogućnosti transmisije bakterije sa životinje na čoveka (Meining A, i sar., 1998; Norris C.R, et al., 1999). U radu Szeredi L. i sar. (2005) postoji velika stopa infekcije sa *H. suis-like* bakterije (85.4%) kod tovnih svinja u Mađarskoj. Rezultat ovako visoke prevalence može biti upotreba Warthin-Starry tehnika bojenja preparata, koja je relativno senzitivna, ipak ne u tolikoj meri kao PCR, ali bar dva puta senzitivnija od tehnike rutinskog histološkog bojenja (De Groote D, et al., 2000). Bakterije iz roda *Helicobacter* u studiji Pirarat N. i sar. (2007) Warthin-Starry tehnikom bojenja su bile identifikovane kod 19 od 115 ispitivanih konvencionalnih svinja (16.52%) t.j kod 16 od 115 ispitivanih svinja (13.91%) kada su za identifikaciju bakterije bile korišćene imunohistohemijske metode. Prevalenca *Helicobacter* spp. u studiji Pirarat N. i sar. (2007) je relativno niska u poređenju sa rezultatima iznetim u nekim drugim studijama (Queiroz D.M.M, i sar., 1990; Cantet F, i sar., 1999; Roosendaal R, i sar., 2000). Park H.J. i sar. (2000) su korišćenjem modifikovanog Steiner silver bojenja utvrdili da je spiralna bakterija prisutna kod 8% od 50 ispitivanih klaničnih svinja. Knežević-Štromar I. i sar. (2008) su za identifikaciju *Helicobacter* spp. u biopsatima pacijenata koristili tehniku gastričnog imprinta obojenog May-Grunwald-Giemsa metodom. Rezultati njihovog rada ukazuju na citološku identifikaciju *Helicobacter* spp. kod 40 od 155 (25.81%) ispitanih humanih biopsata. Misra S.P. i sar. (1998) su u gastričnim otiscima obojenim Loeffler-metilenskim plavim, identifikovali bakteriju *Helicobacter pylori* u 97 od 100 (97%) uzoraka antralnih biopsata pacijenata. Gomes C.A. i sar. (2008) su pomoću eksfolijativne citologije i Papanicolaou bojenja, potvrdili postojanje *H. pylori* u 32 od 50 (64%) ispitanih uzoraka. Al-Ali J. i sar. (2010) su u gastričnim otiscima obojenim Diff-Quik metodom dokazali postojanje *H. pylori* kod 184 od 252 (73.02%) ispitanih antralnih biopsata pacijenata. Histološko ispitivanje koje su Kaur G. i sar. (2004) obavili na 150 uzoraka pacijenata, dokazalo je prisutnost bakterije *H. pylori* kod 12 (8%).

Semikvantitativnom evaluacijom bakterija *Helicobacter* spp. HLO morfologije u želudačnim otiscima svinja uzgajanih na intenzivni (Tabela 3) i ekstenzivni način (Tabela 4), utvrđeni su sledeći denziteti bakterije: HLO + (1+) (Slika 1), 2 HLO ++ (2+) (Slika 2), HLO +++ (3+) (Slika 3). *H. pylori* uglavnom egzistira u mukusnom sloju koji oblaže apikalni pol površinskih gastričnih epitelnih ćelija, a mali broj bakterija je pronađen i u nižim područjima gastričnih foveola (Tagkalidis P, i sar., 2002). *Helicobacter suis* je lokalizovan u lumenu gastričnih žlezda (Joosten M. et al., 2013), u blizini ili unutar kanalikula parijetalnih ćelija fundusa želuca (Zhang G. i sar., 2016). Histološkim ispitivanjem preparata fundusa obojenih

modifikovanom Giemsom, utvrdili smo da su bakterije HLO morfologije uglavnom pozicionirane u gastričnim foveolama (Slika 4) ili u lumenu fundusnih žlezda lociranih u gornjoj trećini *lamina propria* (Slika 5). Semikvantitativnom evaluacijom bakterija *Helicobacter spp.* GLO morfologije svinja uzgojenih na intenzivni (Tabela 5) i ekstenzivni način (Tabela 6) je dokazan je denzitet bakterije GLO+ (1+) (Slika 6a i b, 7a i b). Suprotno bakterijama HLO morfologije, bakterije GLO morfologije su najčešće u neposrednom kontaktu sa parijetalnim ćelijama fundusnih žlezda (Slika 8a i b) i uglavnom pozicionirane u lumenu žlezda gornje trećine *lamina propria* fundusa (Slika 9a i b).

U zavisnosti od primenjenih dijagnostičkih metoda i područja želuca koje je istraživano, prevalenca spiralnih bakterija kreće se u granicama od 8.0 do 77% (Mendes E.N, i sar., 1991; Grasso G.M, i sar. 1996; Utriainen M, Hänninen M.L, 1998; De Groote D, i sar., 2000; Park J.H, i sar., 2000; Choi Y.K, i sar., 2000). Zanimljiv podatak je da, kada se dokazivanje bakterije obavlja histološkim metodama i korišćenjem boja kao što su: karbol fuksin, Gram, Steiner silver, prevalenca bakterije je bila veoma niska (8.0-10.3%) (Mendes E.N, i sar., 1991; Grasso G.M, i sar. 1996; Park J.H, i sar., 2000), dok kada se za identifikaciju bakterije koristio PCR, prevalenca je bila preko 60% (Utriainen M, Hänninen M.L, 1998; De Groote D, i sar., 2000; Roosendaal R, i sar., 2000; Choi Y.K, i sar., 2000).

Naši nalazi odgovaraju rezultatima istraživanja Pirarat N. i sar. (2007) koji su koristeći Warthin-Starry tehniku bojenja, bakterije *Helicobacter speciesa* identifikovali kod 19 od 115 ispitivanih konvencionalnih svinja (16.52%) t.j kod 16 od 115 ispitivanih svinja (13.91%) kada su za identifikaciju bakterija korišćene imunohistohemijske metode. Sličan nalaz iznose Queiroz D.M.M. i sar. (1990) i Grasso G.M. i sar. (1996) kod kojih je 10.8% i 9.4% životinja bilo kolonovano bakterijom. Rezultati našeg rada se podudaraju sa rezultatima Park H.J. i sar. (2000) koji su korišćenjem modifikovanog Steiner silver bojenja utvrdili da je spiralna bakterija prisutna kod 8% od 50 ispitivanih klaničnih svinja. Suprotno tome, u nalazima Szeredi L. i sar. (2005) postoji velika stopa infekcije sa *H. suis-like* bakterijama (85.4%) kod tovnih svinja u Mađarskoj. Rezultati De Groote D. i sar. (2000) dobijeni identifikacijom bakterije PCR-om, su u saglasnosti sa rezultatima istraživača koji su u svojim radovima izneli podatak o prevalenci od 88% (Melnichouk S.L, i sar. 1999). Roosendaal R. i sar. (2000) navode da je 54 od 80 ispitivanih svinja su bilo pozitivno na *H. heilmannii*. Cantet F. i sar. (1999) ističu da je čak 65% svinja

pozitivno na ovu bakteriju, što odgovara nalazima francuskih istraživača (Thiberge, J.M, i sar., 1997) kod kojih 63% od 60 svinja su bilo inficirano *Helicobacter* vrstama.

Nekoliko bitnih faktora utiče na prevalencu infekcije sa *Helicobacter* spp. kod svinja, kao što su: uzrast životinje, geografsko područje (Hellemans A, i sar., 2007; Kopta L.A, i sar., 2010), način uzgoja koji se u većini studija ne navodi (Queiroz, D.M, i sar., 1990; Grasso G.M, i sar., 1996; Thiberge J.M, i sar., 1997), stresni faktori, koinfekcija sa drugim mikroorganizmima, različiti načini uzimanja uzoraka, primena različitih laboratorijskih metoda za detekciju helikobaktera, vrsta bojenja i senzitivnost metoda koje su korišćene u cilju detekcije bakterija (Mendes E.N, i sar., 1991).

Prevalenca bakterija *Helicobacter* spp., kao i bakterija HLO i GLO morfologije kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način je bila viša u odnosu na iste kod svinja uzgajanih na intenzivni način. Mogući razlog ovakve diskrepance su verovatno bolji higijenski uslovi čuvanja životinja kao i zasebno čuvanje različitih kategorija životinja u intenzivnim uslovima uzgoja. Kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način različite kategorije životinja se drže zajedno i u lošijim higijenskim uslovima. Lee J.U. i sar. (2006) su ustanovili da se infekcija kod mladih jedinki stiče u periodu sisanja, putem kontaminirane pljuvačke ili fekalno-oralno tokom kohabitacije. Epidemiološke studije sprovedene na ljudima, govore o povezanosti visoke prevalence *H. pylori* i loših higijenskih uslova (Hammermeister I, i sar., 1992; Parsonnet J, 1995; Bardhan P.K, 1997). Melnichouk S.L. i sar. (1999) ističu da farme koje uzgajaju SPF životinje su slobodne od “*Candidatus H. suis*”, što nije slučaj sa farmama gde se životinje uzgajaju na konvencionalni način. Ovi podaci pokreću pitanje o mogućem uticaju faktora stanovanja i upravljanja u industrijskim farmama svinja na transmisiju “*Candidatus H. suis*”.

6.2. Utvrđivanje postojanja hroničnih gastritisa kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način i udeo *Helicobacter* spp. u etiologiji gastritisa

Postoje dva osnovna mehanizma kojima *H. pylori* (ili njegovi produkti) izaziva inflamaciju želuca. Na početku infekcije, bakterija može da uđe u interakciju sa epitelnim ćelijama na površini želuca izazivajući njihovo direktno oštećenje ili stimulisati ih na oslobađanje proinflamatornih medijatora (hemokina). Različiti hemokini poreklom od epitelnih ćelija pokazuju sličnu ćelijsku specifičnost sa: hemokinima članovima C-X-C subfamiliije (pr.

IL-8, GRO- α), koje pokazuju specifičnu hemotaktičnu aktivnost prema neutrofilima, kao i sa hemokinima članovima C-C familije (pr. RANTES, MIP-1 α), koje deluju na monocite i limfocite (Baggiolini M, i sar., 1994). Brojne studije dokazuju da je želudačni epitel važni izvor hemokina (Crabtree J.E, i sar., 1994; Crowe S.E, i sar., 1995) koji se oslobađaju kao odgovor na samu bakteriju *H. pylori* (Crabtree J.E, i sar., 1994; Sharma S.A, i sar., 1995; Aihara M, i sar., 1996) i kao odgovor eksprimiranih endogenih proinflamatornih medijatora (Yashimoto K, i sar., 1992). Delovanjem produkata *H. pylori* na mukozi želuca, stimuliše se nespecifični i specifični imunološki odgovor domaćina i pri tome oslobađaju se različiti citokini. *H. pylori* indukuje Th1 imunološki odgovor domaćina sa posledičnom sekrecijom proinflamatornih citokina, kao što su: IL-1 β , TNF- α , IL-8 i IL-6 (Crabtree J.E., i sar., 1993). Ovi citokini posreduju u brojnim reakcijama kao što su: aktivacija neutrofila i makrofaga, regrutacija T ćelija i inhibicija acidne sekrecije (Kusters J.G, i sar., 2006). Iako Th1 celularni odgovor preovlađuje tokom *H. pylori* infekcije, postoje dokazi da i humoralni imunitet takođe igra određenu ulogu. Infiltrati plazma ćelija prisutnih u mukozi kod *H. pylori* gastritisa, verovatno predstavljaju lokalni humoralni odgovor organizma.

Hronični gastritis je definisan kao inflamacija gastične mukoze vidljiva pod mikroskopom, koja se histološki odlikuje infiltracijom tkiva sa inflamatornim mononuklearnim ćelijama karakterističnim za hronični tok (limfociti i plazma ćelije) (Rauws E.A.J, i sar., 1998), polimorfonuklearnim ćelijama (neutrofili) koji ukazuju na aktivnost gastritisa (Dixon M.F, i sar., 1996) i u nekim slučajevima, razvojem glandularne atrofije. Analizom vrednosti dobijenih histološkom procenom želuca svinja uzgajanih na intenzivni način (Tabela 7, Grafikon 1) i svinja uzgajanih na ekstenzivni način (Tabela 8, Grafikon 2) može se uočiti da je manji broj želudaca bez promena (normalnih) prisutan kod svinja uzgajanih na intenzivni način naspram svinja uzgajanih na ekstenzivni način (Grafikon 3). Suprotno tome, broj utvrđenih slučajeva sa hroničnim gastritisom kod svinja uzgajanih na intenzivni način je veći od broja želudačnih mukoza sa evaluiranim hroničnim gastritisom kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način. Udeo *Helicobacter spp.* u etiologiji gastritisa je bio veći kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način (39.84%) u poređenju sa svinjama iz intenzivnog načina uzgoja (19.57%) (Tabela 9 i Tabela 10). Komparacijom stepena inflamacije (Tabela 11 i Tabela 12) i srednjih vrednosti, (ukupno i zasebno po anatomskim regionima: *Helicobacter spp.* pozitivnih i negativnih, *Helicobacter spp.* pozitivnih, *Helicobacter spp.* negativnih), (Tabela 13 i Tabela 14) evidentno je da teži stepeni

inflamacije i veće srednje vrednosti preovlađuju u želucu svinja uzgajanih na intenzivni način. Smatra se da mogući uzrok ovakvih rezultata je verovatno način ishrane životinja uzgajanih na dva različita načina. Dnevni obroci tovni svinja se uglavnom sastoje od smeše fino mlevenih žitarica koje obezbeđuju efikasnu konverziju hrane i brzi porast telesne težine. Dobro je poznato da obroci sa niskim procentom vlakana i malom veličinom čestica dovode do povećanog rizika od oštećenja gastrične mukoze, naročito kod životinja koji su pod stresom (Maxwell C.V, i sar., 1970; Eisemann J.H, Argenzio R.A, 1999; Millet S, i sar., 2010; 2012a; 2012b). Mason F. i sar. (2013) su u eksperimentatlnim uslovima hranili svinje silažom od celog klipa kukuruza, koja je bila seckana i stoga imala dužu veličinu čestica (3.4–3.5 mm) (Zanfi C, Spanghero M, 2012) i veći sadržaj neutralnih vlakna, za razliku od veličine čestica smeše žitarica namenjene za ishranu svinja koja je bila 0.2–1.0 mm (Eisemann J.H, Argenzio R.A, 1999; Millet S, i sar., 2010; 2012a; 2012b). Autori su došli do zaključka da umereno uključenje kukuruzne silaže u obrocima tovni svinja, povećava zadržavanje vlaknastih materija u želucu, smanjuje fluidnost želudačne sadržine, a prisustvo krupnih čestica održava integritet gastrične sluznice i favorizuje manju učestalost gastritisa, koji prema Pascotto E. i sar. (2016) je najčešća lezija fundusnih i piloričnih regiona želuca tovni svinja. Mendes E.N. i sar. (1991) navode da je pilorični gastritis prisutan i kod svinja negativnih na prisustvo bakterije. Pretpostavlja se da postoje brojni uzroci za pojavu gastritisa kod tovni svinja, kao na primer: alimentarni status, specifične komponente ishrane, drugi mikroorganizmi (Szeredi L, i sar. 2004) ili paraziti kao što su *Hyostrogylus rubidus*, *Ascarops spp.*, *Physocephalus* i *Simondsia spp.* (Jubb K.V.F, i sar., 1985).

6.3. Histološke karakteristike mukoze želuca sa identifikovanim bakterijama GLO morfologije

Postoje veoma suprostavljani podaci o povezanosti GLO i gastritisa svinja (Barbosa A.J.A, i sar., 1995; Bedel A, i sar., 1997; Krakowka S, i sar., 1987; Queiroz D.M, i sar., 1996). Yamasaki L. i sar. (2009) ističu da je ulceracija *pars oesophagea* najprisutniji nalaz klaničnih svinja kod kojih je identifikovan *Helicobacter spp.* Suprotno tome, rezultati istraživanja koji su izveli Mall A.S. i sar. (2004) ukazuju na prisutnost ulceracija *pars oesophagea* kod klaničnih svinja koje su bile negativne na *Helicobacter spp.* ali sa nalazom akutne inflamacije želuca. Ni kd jedne od svinja sa pozitivnim *Helicobacter spp.* nije potvrđeno postojanje ulkusa *pars*

oesophagea. Krakowka S. i sar. (1998) su izveli eksperiment u kojem su koristili gnotobiotske prasiće i dokazali da uzrok pojave gastro–ezofagijalnih lezija može biti ishrana tečnom hranom obogaćenom jaglehidratima ili monoinfekcija sa fermentativnim komensalnim bakterijama (*Lactobacillus*, *Bacillus spp*), ali ne i infekcija sa *Helicobacter spp*. Rezultati našeg ispitivanja ukazuju da ne postoji povezanost između infekcije sa bakterijama GLO morfologije i ulceracije *pars oesophagea*, što je u suglasnosti sa nalazima Grasso G.M. i sar. 1996, Krakowka S. i sar. 1998, Melnichouk S.L. i sar. 1999, Accioly J.M. i sar. 2000, Park J.H. i sar. 2000, Phillips N.D. i sar. 2000, Hellemans A. i sar. 2002, Ramis G. i sar. 2002 i Mall A.S. i sar. 2004. Nasuprot tome, druga grupa autora (Barbosa A.J, i sar., 1995; Queiroz D.M, i sar., 1996; Roosendaal R, i sar., 2000; Choi Y.K, i sar., 2001; Yamasaki L., i sar. 2009) navodi da postoji korelacija između gastrične infekcije helikobakterom i ulceracijama u *pars oesophagea*. U nastajanje gastričnih lezija neglandularnog dela želuca, najverovatnije su uključeni različiti faktori: stres, transport i nutritivni faktora kao što su prisustvo masnih kiselina kratkih lanaca u želuca kao i fino isitnjenjena i peletirana hrana (Potkins Z, i sar., 1989; Hessing M.J.C, i sar., 1992; Elbers A.R.W, Dirkzwager A, 1994; Argenzio R.A, Eisemann J, 1996; Friendship R.M, et al., 2003). Thomson J.R. i Friendship R.M. (2012) navode da je fino mleveni obrok povezan sa većom incidencom gastričnih lezija. Stres prilikom uzgajanja životinja i manipulacija pre klanja su takođe identifikovani kao predisponirajući faktori za formiranje gastričnih lezija (Swaby H, Gregory N.G, 2012). Posmatrajući uporedno stepen inflamacije (Tabela 11 i Tabela 12) i srednje vrednosti (Tabela 13 i Tabela 14) želuca svinja uzgajanih na intenzivni ili ekstenzivni način, zabeležen je teži stepen inflamacije i veće srednje vrednosti kod hroničnih gastritisa sa identifikovanim *Helicobacter spp*. za razliku od hroničnih gastritisa kod kojih *Helicobacter spp*. nije identifikovan. Ovakvi rezultati korespondiraju sa nalazima Mendes E.N. i sar. 1991, Grasso G.M. i sar.. 1996, Queiroz D.M. i sar. 1996, Bedel A. i sar. 1997, Krakowka S. i sar. 1998 i Park J.H. i sar. 2000, koji potvrđuju da gastritis u glandularnom regionu želuca može biti rezultat infekcije bakterijama *Helicobacter speciesa*. Szeredi L. i sar. (2004) nisu pronašli korelaciju između gastritisa i infekcije želuca *Helicobakter spp*, što je u saglasnosti sa nalazima ostalih istraživača (Barbosa A.J, i sar., 1995; Roosendaal R, et al., 2000), koji takođe nisu pronašli značajnu korelaciju ovih parametara.

U cilju prepoznavanja odgovora tkiva prilikom inflamacije želuca, od esencijalne je važnosti poznavanje histoloških odlika normalne (nepromenjene) mukoze želuca. Na slici 10 je

pretstavljen histološki nalaz nepromenjene (normalne) mukoze neglandularnog dela želuca (*pars oesophagea*). Epitel je pločasto-slojevit i neorožnan, *stratum basale* je normalne debljine, nije evidentna elongacija papila, a u *lamina propria* nije prisutan inflamatorni infiltrat sačinjen od limfocita i plazma ćelija. Normalna mukoza glandularnog dela želuca u području fundusa bez infiltracije *l. propria* sa ćelijama hronične inflamacije je prikazana na slici 11 i slici 12. Na slici 13 je pretstavljen žlezdani region fundusa. Parijetalne (acidogene) ćelije su piramidalnog oblika, citoplazma je acidofilna, a jedro centralno postavljeno. Glavne (pepsinogene) ćelije su manje od parijetalnih, jedro je bazalno postavljeno, a citoplazma se odlikuje postojanjem sekretornih granula. Neinflamirana mukoza pilorusa je evidentirana na slici 14. *Lamina epithelialis* sačinjava jednoslojni cilindrični epitel, u *lamina propria* mukoze nije uočljiva infiltracija sa limfocitima i plazma ćelijama. Histološki prikaz tubularnih mukoznih žlezda smeštenih u *lamina propria* pilorusa je na slici 15.

U histološkom nalazu svih uzoraka sa identifikovanom GLO bakterijom, preovladava uglavnom blagi (1 stepen) inflamacije. U *pars oesophagea* je uočljiva blaga infiltracija *lamina propria* sa limfocitima i plazma ćelijama, kao i blaga hiperplazija bazalnog sloja višeslojnog pločastog neorožalog epitela (Slika 16, Slika 17). Blaga infiltracija sa limfocitima i plazma ćelijama u područje fundusa je uglavnom superficijalna, neposredno ispod *lamina epithelialis*, locirana u gornjim partijama *lamina propria* bez zadiranja u region fundusnih žlezda. Nije evidentirana erozija površinskog epitela (Slika 18a i b, Slika 19, Slika 20). U području pilorusa, evidentna je površinska infiltracija limfocita i plazma ćelija neposredno ispod *l. epithelialis*, bez oštećenja površinskog cilindričnog epitela (Slika 21). Difuzna infiltracija *l. propria* sa inflamatornim ćelijama, prisutna je i u regionu pilorusnih žlezda, blažeg stepena (Slika 22). Sporadični nalaz su i limfni folikuli lokalizovani najčešće u donjim partijama *l. propria* između mukoznih žlezda pilorusa (Slika 23, Slika 24).

Rezultati našeg rada ukazuju da kod svih slučajeva gastritisa svinja čiji je uzročnik GLO bakterija, stepen gastritisa je bio blag ili umeren, dok glavninu inflamatornog infiltrata čine uglavnom mononuklearne ćelije, što je u saglasnosti sa nalazima Barbosa A.J.A. i sar. (1995), Bedel A. i sar. (1997), Queiroz D.M.M. i sar. (1996) i Roosendaal R. i sar. (2000), a suprotno nalazima aktivnog hroničnog gastritisa izazvanog sa *H. heilmannii* kod čoveka (Stolte M, 1997). Analiza stepena inflamacije (Tabela 15 i Tabela 16) i srednje vrednosti želuca (Tabela 17, Grafikon 4, Tabela 18, Grafikon 5) sa identifikovanom bakterijom GLO morfologije kod obe

ispitivane grupe svinja (Grafikon 6), pokazuje postojanje blagog (1 stepena) inflamacije, što je u saglasnosti sa Barbosa A.J. i sar. (1995) čiji nalazi ukazuju da svaki spiralni gastrični mikroorganizam ima poseban način interakcije sa sluzokožom želuca svake životinjske vrste i da kod svinja, *Gastrospirillum* spp. ne izaziva žestok inflamatorni odgovor. Srednje vrednosti su nešto više u regionima *pars oesophagea* i *pars pylorica*, što je u saglasnosti sa navodima Mendes E.N. i sar. (1991) koji tvrde da postoji značajna povezanost između spiralnih bakterija i hroničnog gastritisa pilorusa svinja. U studiji Queiroz D.M. i sar. (1996) postojala je čak 100% korelacija, tako da je gastritis antruma bio prisutan kod svih GLO-pozitivnih životinja. Park H.J. i sar. (2000) su zapazili značajnu povezanost između prisustva spiralnih bakterija u piloričnoj mukozi želuca i postojanja hroničnog piloričnog gastritisa kod ispitivanih klaničnih svinja. Barbosa A.J. i sar. (1995) navode da postoji izvesni stepen povezanosti između *Gastrospirillum suis* sa mononuklearnim inflamatornim ćelijskim infiltratom u antralnoj mukozi želuca svinja, ali da ne postoji povezanost između težine inflamatorne reakcije i broja detektovanih bakterija (Mendes E.N, i sar., 1991; Queiroz D.M, i sar., 1996). Kod čoveka, postoji korelacija između intenziteta i aktivnost gastritisa i broja *H. pylori* u gastričnoj mukozi (Satoh K, i sar., 1991). U radu Barbosa A.J. i sar. (1995), dokazano je da postoje opsežnije inflamatorne reakcije u sluznici kardije, a manji je broj bakterija u kardiji upoređeno sa antralnom ili fundusnom mukozom. Rezultati naših istraživanja ukazuju na niži stepen inflamacije i manju srednju vrednost *pars fundica* u odnosu na *pars pylorica* želuca, što se slaže sa navodima Mendes E.N. i sar. (1991) koji govore čak i o nepromenjenoj mukozi fundusa svinja pozitivnih na *G. suis*, uprkos postojanju piloričnog gastritisa. Park H.J. i sar. (2000) ističu da kod svinja sa identifikovanom spiralnom bakterijom, područje fundusa nije bilo sa znacima ozbiljne inflamacije. Isti autori navode da i kod nekih svinja koje su bile negativne na prisustvo spiralnih bakterija iz roda *Helicobacter* i pored inflamacije pilorusa, mukoza fundusa je bila nepromenjena i bez znakova inflamacije.

U našem istraživanju, u nekim od uzoraka sa identifikovanom GLO bakterijom, evidentirano je prisustvo limfnih folikula lociranih u donjoj trćini *lamina propria*, u blizini *lamina muscularis mucosae* pilorusa. Mall A.S. i sar. (2004) navode da je veoma čest nalaz kod svinja inficiranih sa *Helicobacter* spp. prisustvo limfoidnih agregata lociranih u *lamina propria* mukoze želuca. Studija sprovedena od strane Ierardi E. i sar. (2001) na biopstatima pacijenata dokazala je da je prisustvo *H. heilmannii* uvek praćeno pojavom hroničnog gastritisa, a limfoidni

agregati su bili redovno prisutni i lokalizovani pretežno na bazalnom delu lamine proprije. Joonsten M. i sar. (2013) su potvrdili hronični difuzni gastritis korpusa i antruma želuca i prisustvo limfoidnih agregata kod osoba sa identifikovanim *H. suis*. Mendes E.N. i sar. (1991) ukazuju na čvrstu povezanost između prisustva „*G. suis*” i postojanja limfnih folikula, što se kod čoveka smatra imunološkim odgovorom organizma na kolonizaciju želuca sa *H. pylori* (Stolte M, Eidt S, 1989).

6.4. Histološke karakteristike mukoze želuca sa identifikovanim bakterijama HLO morfologije

Gastritis je rezultat prirodne infekcije sa *H. pylori* kod čoveka (Warren J.D, Marshall B.J, 1983) ali i prirodne infekcije konvencionalnih prasića (Krakowka S, i sar., 2005), eksperimentalnih infekcija gnotobiotskih prasića (Krakowka S, i sar., 1987; Bertram T.A, i sar 1991; Krakowka S, i sar., 2005a), konvencionalnih prasića (Poutahidis T, i sar. 2001), barrier-born prasića (Engstrand L, i sar. 1990), minijturnih prasića (Koga T, i sar., 2002). Konvencionalni prasići kao animalni model ispitivanja humane *H. pylori* infekcije pruža prednost u pogledu anatomskih i fizioloških karakteristika monogastričnog želuca koji je sličan želucu čoveka (Krakowka S, i sar., 1990). Kod obe navedene vrste koje su podložne na infekciju sa *H. pylori* (čovek i svinje), prisustvo *H. pylori* nalazi se u korelaciji sa inflamatornim odgovorom. Podaci iz literature navode na povezanost ova dva parametra što vodi do opšteg zaključka da je *H. pylori* uzročno povezan sa pojavom gastritisa i formiranje ulkusa kod čoveka (Marshall B.J, i sar., 1985; Buck G.E, i sar., 1986; Paull G, Yardly J.H, 1989).

Kako čovek, tako i svinje koje imaju perzistentnu infekciju sa *H. pylori* razvijaju ozbiljni gastritis, međutim karakter inflamacije se bitno razlikuje kod ove dve vrste. Kod čoveka *H. pylori* se može detektovati širom želuca inficiranih pacijenata, ali gastritis se može ustanoviti samo u regionima fundusne i antralne mukoze (Gilman R.J, i sar., 1986), a neutrofilna komponenta je dominantna i permanentno prisutna čak i kod hroničnih gastritisa (Goodwin C.S, i sar., 1986; Marshall B.J, 1986). Kod gnotobiotskih prasića inflamacija je ograničena na region kardije želuca, a neutrofilni odgovor je nekonzistentan i prolazne prirode. Histološkim ispitivanjem inflamatornog infiltrata uzoraka želudačne mukoze svinja koji su bili predmet našeg istraživanja, utvrdili smo da je isti sastavljen od mononuklearnih ćelija (limfociti i plazma ćelije)

karakterističnih za hronični tok inflamacije, dok polimorfonuklearni leukociti (neutrofili) nisu zabeleženi. Ovakva zapažanja odgovaraju navodima drugih autora (Krakowka S, i sar., 1987; Engstrand L, i sar., 1990; Bertram T.A, i sar., 1991) koji potvrđuju da inflamatorni infiltrat želuca svinja koji je rezultat infekcije sa bakterijama *Helicobacter* vrsta je limfoplazmatičnog karaktera. Krakowka S. i sar. (1987) potvrđuju da se eksperimentalno izazvana infekcija gnotobiotskih prasića sa *H. pylori* manifestuje primarno inflamacijom kardije limfocitnog karaktera, dok ostale regije želuca (fundus i pilorus) su neznatno promenjene. Isti autori objašnjavaju da nedelju dana posle inokulacije neonatalnih gnotobiotskih prasića bakterijskom kulturom *Campylobacter (Helicobacter) pylori*, u kardijalnom regionu želuca su bili prisutni neutrofilni infiltrati i mali limfoidni folikuli. Dve nedelje nakon infekcije, došlo je do znatnog povećanja broja mononuklearnih ćelija i u lamini proprii i u submukozi kardije i do formiranja diskretnih limfofolikularnih agregata. Tri nedelje nakon infekcije, infiltracija i proliferacija mononuklearnih ćelija je bila intenzivnija, a limfoidni folikuli su bili prominentnije izraženi i povremeno ujedinjeni u većim formacijama. Engstrand L. i sar. (1990) pomoću eksperimentalne infekcije prasića slobodnih od specifičnih patogena (barrier-born pigs) sa humanim sojem *H. pylori* su dokazali da neutrofili, koji su tipično prisutni u histološkoj slici humanih gastritisa tipa B (Whitehead R, 1984), nisu bili komponenta antralnog gastritisa inficiranih svinja, već su preovladavali mononuklearni T limfociti koji se dovode u vezu sa lokalnim, celularnim imunim odgovorom. Bertram T.A. i sar. (1991) naglašavaju da je inflamatorna reakcija koja je rezultat infekcije gnotobiotskih prasića sa *H. pylori* prvenstveno limfoplazmatičnog karaktera, a evidentno je i formiranje ekstenzivnih limfnih folikula lociranih u *lamina propria* mukoze i u submukozu. *H. pylori* izaziva aktivni gastritis kod čoveka, ali kod gnotobiotskih prasića samo limfocitni gastritis, što sugerise da različiti domaćini pokazuju različiti patohistološki odgovor na istu vrstu bakterije *Helicobacter* spp. (Krakowka S, i sar., 1987). Poutahidis T. i sar. (2001) izvođenjem eksperimentalne infekcije sa *H. pylori* na konvencionalno uzgojenim prasićima su dokazali odsustvo inflamatornog infiltrata neutrofilnog karaktera. Kod konvencionalnih prasića kao i kod dece, inflamatorni odgovor je bio limfocitnog karaktera, što je tipično za neaktivni gastritis (Bertram T.A, i sar., 1991; Mitchell H, i sar., 1991). Limfocitni gastritis se incidentno uočava i kod pacijenata inficiranih sa *H. pylori* (Dixon M.F, i sar., 1988). Međutim kod pedijatrijskih slučajeva *H. pylori* infekcije, prirodni karakter inflamatornog infiltrata je dominantno limfocitan (Kilbridge P.M, i sar., 1988). Istraživanja Langner M. i sar. (2009)

ukazuju da se hronični gastritis kod dece izazvan infekcijom sa *H. pylori* odlikuje intenzivnim mononuklearnim ćelijskim infiltratima, opsežnijim u antralnim regijama želuca, što se smatra njegovom karakteristikom (Hassall E, Dimmick J.E, 1991).

Na slici 25 je predstavljen umereni stepen inflamacije neglandularnog dela želuca (*pars oesophagea*), okarakterisan fokalnim infiltracijama *lamina propria* sa limfocitima i plazma ćelijama i umerenom elongacijom papila. Fokalne infiltracije *lamina propria* sa limfocitima i plazma ćelijama i elongacija papilla (> 75% od ukupne debljine višeslojnog pločastog epitela) su prikazane na slici 26. Patohistološki nalazi gastritisa umerenog stepena u regionu fundusa su okarakterizovani: fokalnom infiltracijom limfocita i plazma ćelija ispod *lamina muscularis mucosae* (Slika 27) i limfnim folikulima iznad *lamina muscularis mucosae* koji zadiru u žlezdani region *lamina propria* (Slika 28 i Slika 29). Inflamatorni infiltrat, kao i limfni folikuli unutar *lamina muscularis mucosae* su prikazani na slici 30, 31, 32, 33. Limfni folikul koji se proteže u gornjoj trećini lamine proprie, neposredno ispod *lamina epihelialis* je prikazan na slici 34. Histološki nalaz mukoze pilorusa sa umerenim stepenom inflamacije se manifestuje prisustvom fokalnih inflamatornih infiltrata lociranih iznad *lamina muscularis mucosae* (Slika 35, Slika 36) kao i difuznom infiltracijom *lamina propria* (Slika 37, Slika 38a i b) ćelijama karakterističnim za hronični tok inflamacije tj. limfocitima i plazma ćelijama (Slika 39 i Slika 40). Engstrand L. i sar. (1990) ističu da kod prasića slobodnih od specifičnih patogena (barrier-born pigs) inficiranih sa humanim sojem *H. pylori* patohistološke lezije želuca su veoma slične promenama kod čoveka, karakterističnim za fokalni gastritis. Krakowka S. i sar. (1987) objašnjavaju da se eksperimentalno izazvana infekcija gnotobiotskih prasića sa *H. pylori* manifestuje primarno fokalnim inflamacijama kardije limfocitnog karaktera, dok su ostale regije želuca (fundus i pilorus) neznatno promenjene. Distribucija lezija unutar sluznice kardije je identični sa promenama piloričnog antruma čoveka. Koga T. i sar. (2002) su eksperimentalno izazvali gastritis sa humanim sojem *H. pylori* kod minijaturnih prasića i zabeležili da su fokalna ili difuzna infiltracija limfocitima, kao i razvijeni limfoidni folikuli prisutni jedino u žlezdanim regionima kardije i fundusa, ali ne i u antralnom regionu želuca. Naši nalazi korespondiraju sa nalazima Poutahidis T. i sar. (2001) koji su prasiće uzgojene na konvencionalni način eksperimentalno inficirali sa *H. pylori* i dokazali postojanje fokalnog i difuznog limfocitarnog gastritisa, umerenog do težeg stepena u mukozi kardije, fundusa i pilorusa svih inficiranih jedinki. Sličan nalaz iznose Eaton A.K. i sar. (1990) koji su izvođenjem eksperimentalne

infekcije konvencionalnih prasića sa *H. pylori* dokazali postojanje hroničnog gastritisa, umerenog – težeg stepena u području kardije i antruma želuca svih inficiranih jedinki. Naša istraživanja su ukazala na postojanje umerenih stepena gastritisa i kod svinja kojima nije identifikovana bakterija HLO morfologije. Naši nalazi se podudaraju sa rezultatima Eaton A.K. i sar. (1990) koji su zabeležili gastritis blažeg stepena i kod neinficiranih jedinki kontrolne grupe. Isti autori smatraju da je ovakav blagi stepen gastritisa kod neinficiranih jedinki verovatno rezultat delovanja normalne mikroflore želuca prasića ili nekih drugih patogena nebakterijske prirode.

Ozbiljni stepen inflamacije koji se karakteriše infiltracijom limfocita i plazma ćelija i limfnim folikulima u *lamina propria pars oesophagea*, kao i elongacija papila koje dostižu do površinskih slojeva višelojnog pločastog epitela je predstavljen na slici 41. Na slici 42a i b je evidentiran ozbiljni stepen inflamacije kardije sa prisustvom limfnih folikula u *lamina propria* mukoze. Patohistološki nalaz ozbiljnog stepena inflamacije pilorusa bez oštećenja površinskog epitela sa difuznom infiltracijom limfocita i plazma ćelija u *lamina propria* mukoze, prisustvom limfnih folikula sa germinativnim centrom je prikazan na slikama 43a i b i slikama 44a,b i c. Jedna od histoloških odlika ozbiljnog stepena inflamacije pilorusa je difuzna infiltracija mononukleranih inflamatornih ćelija u *lamina propria* i separacija piloričnih žlezda bez erozije površinskog epitela (Slika 45a i b i 46a i b) kao i sa erozijom površinskog epitela (Slika 47a i b). Naši rezultati pokazuju da je kod jedne od svinja sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije u regionu antruma evidentirana erozija epitela, što je u saglasnosti sa nalazima Krakowka S. i sar. (1995) koji iznose da je infekcija sa *H. pylori* u korelaciji sa erozijama epitela antruma želuca kod inficiranih svinja. Međutim kod svih ostalih svinja sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije, nisu evidentirani erozije epitela i ulceracije, što odgovara navodima Engstrand L. i sar. (1990) i Koga T. i sar. (2002). Rezultati našeg istraživanja se podudaraju sa rezultatima Krakowka S. i sar. (2005) koji navode da kod konvencionalno uzgojenih prasića, iz kojih je izolovan *Helicobacter spp.* (izolat 2662, veoma sličan humanom *H. pylori*), u kardiji, fundusu i pilorusu želuca su bili evidentni multifokalni ili difuzni inflamatorni limfocitni infiltrati i limfoidni folikuli. Eksperimentalnom infekcijom izolatom 2662 na gnotobiotskim prasićima, Krakowka S. i sar. (2005a) su dokazali postojanje prominentne inflamacije kardije i pilorusa, koja se odlikuje prisustvom limfocitnih i plazmocitnih inflamatornih infiltrata. Gnotobiotski prasići eksperimentalno inficirani izolatom 1268, razvili su

minimalan stepen inflamacije i odsustvo limfnih folikula. Iako se veliki limfoidni folikuli smatraju odlikom *H. pylori* infekcije i kod ljudi i kod životinja, mišljenje o hiperplaziji gastričnog MALT-a se razlikuje. U studiji Poutahidis T. i sar. (2001) iako postoje dokazi prisustva gastričnog MALT-a kod kontrolnih (neinficiranih) životinja, ipak hiperplazija specifično organizovanog limfoidnog tkiva je bila zapažena kod svih *H. pylori* inficiranih prasića, što odgovara nalazima ovog istraživanja. Međutim, veoma dobro razvijeni gastrični MALT je prisutan i kod zdravih adultnih krmača izloženih na okolinu bogatu sa mikroorganizmima (Green W.B, et al., 1997) kao i kod odijenih konvencionalno uzgajanih prasića u području kardije, korpusa i pilorusa želuca (Mazzoni M, et al., 2011). Kod čoveka, normalna gastrična mukoza ne sadrži organizovano limfoidno tkivo, a istraživači su ukazali na povezanost *H. pylori* infekcije i akumulacije MALT-a (Wotherspoon A.C, 1998), a limfni folikuli se ređe zapažaju u gastričnom tkivu pacijenata inficiranih sa *H. pylori* (Paull G, Yardly J.H, 1989). Međutim, limfoidni folikuli u gastričnoj mukozu čoveka mogu se smatrati specifičnim markerom za *H. pylori* infekcije (Graham D.Y, i sar., 1987; Wyatt J.I, Rathbone B.J, 1988), iz razloga što su limfoidni folikuli prisutni kod oko 30% antralnih i fundusnih bioptata sa ovim agensom, što nije slučaj kod gastritisa druge etiologije (Wyatt J.I, Rathbone B.J, 1988). Poutahidis T. i sar. (2001) ističu da težina eksperimentalno indukovano gastritisa napreduje proporcionalno sa vremenom trajanja infekcije. Prisustvo limfoidnih folikula može ukazivati na produženu antigenu ekspoziciju kod perzistentne infekcije, a postojanje istih je dokumentovano kod pacijenata sa atrofičnim gastritisom kao rezultat infekcije sa *H. pylori* koja je trajala više od 2 godine (Graham D.Y, i sar., 1987). Analizom i komparacijom stepena inflamacije (Tabela 19 i Tabela 20) i srednje vrednosti gastritisa (Tabela 21, Grafikon 7, Tabela 22, Grafikon 8, Grafikon 9) sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije kod svinja uzgajanih na intenzivni i ekstenzivni način, zabeležane su stepeni inflamacije i srednje vrednosti koji ukazuju na postojanje umerenog-težeg stepena gastritisa saglasno navodima Poutahidis T. i sar. (2001). Kod gastritisa sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije, uočavamo da su teži stepen inflamacije i veće srednje vrednosti prisutne u regionima *pars oesophagea* i *pars pylorica*, u poređenju sa *pars fundica* želuca. Eaton A.K. i sar. (1990) su eksperimentalnoj infekciji konvencionalnih prasića sa *H. pylori* dokazali postojanje hroničnog gastritisa, umerenog-težeg stepena u području kardije i antruma želuca svih inficiranih jedinki. Istraživanja Poutahidis T. i sar. (2001) potvrđuju da težina eksperimentalno indukovano gastritisa napreduje

proporcionalno sa vremenom trajanja infekcije. Crabtree J.E. i sar. (2004) ističu da tokom eksperimentalne infekcije Mongolskih gerbila sa *H. pylori*, u prve 4 nedelje inflamacija želuca obuhvata pretežno antrum, a ako infekcija traje više od 30 nedelja gastritis prelazi i na područje korpusa.

Kako u humano, tako i u veterinarskoj patologiji, dobro je poznata činjenica o različitoj patogenosti različitih bakterija *Helicobacter* vrsta (Peyrol S, i sar., 1998). *Helicobacter* bakterije izolovane iz želuca svinja pripadaju različitim vrstama ovog roda i međusobno se bitno razlikuju kako po patogenosti, tako i po virulentnosti. Tako na primer, *Helicobacter-like* bakterije koje su okarakterisane kao visoko patogene, mogu izazvati ulceracije ezofagealnog ili glandularnog dela želuca, gastritis ozbiljnog stepena i formiranje limfoidnih folikula (Krakowka S, et al., 2005a). Rezultati našeg istraživanja pokazuju da stepen inflamacije i srednje vrednosti gastritisa su veće kod gastritisa sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije, upoređeno sa vrednostima istih parametra kod svinja sa identifikovanom bakterijom GLO morfologije (Grafikon 10, Grafikon 11), kao i sa vrednostima nespecifičnih (HLO i GLO negativnih) gastritisa (Grafikon 12, Grafikon 13, Grafikon 14). Statističkom analizom srednjih vrednosti HLO-pozitivnih i nespecifičnih (HLO-negativnih) gastritisa, došli smo do zaključka da postoji statistička značajnost između HLO-pozitivnih i HLO-negativnih mukoza *pars oesophagea* u ekstenzivnom uzgoju ($p < 0.01$), kao i između HLO-pozitivnih i HLO-negativnih pilorusnih mukoza i to u oba uzgoja: intenzivni ($p < 0.001$) i ekstenzivni ($p < 0.05$) (Tabela 23, Grafikon 15, Grafikon 16). Suprotno tome, infekcija sa *Helicobacter heilmannii*, za kojeg je dokazano da ima nisku patogenost (De Groote D, i sar., 1999; Krakowka S, i sar., 2005a; Hellemans A, i sar., 2007; Baele M, i sar., 2008) povezuje se jedino sa gastritisima blažeg stepena i bez evidentiranih ulceracija (Krakowka S, i sar., 2005a). Uprkos niskih srednjih vrednosti fundusnih mukoza svinja u intenzivnom uzgoju, postojala je značajna razlika ($p < 0.05$) između mukoze fundusa GLO-pozitivnih i nespecifičnih (GLO-negativnih) gastritisa (Tabela 24, Grafikon 17, Grafikon 18). Pretpostavlja se da mogući razlog ovakvih rezultata jeste ishrana životinja (naročito u uslovima povećanog stresa) obrocima koji su fino mleveni i sadrže male partikule (Millet S, i sar., 2012a). Nije postojala značajnost razlike između GLO-pozitivnih i nespecifičnih (GLO-negativnih) piloričnih mukoza kod svinja u oba uzgoja, što je u saglasnosti sa nalazima Barbosa A.J. i sar. (1995), Roosendaal R. i sar. (2000) i Szeredi L. i sar. (2005).

Uemura N. i sar. (2001) naglašavaju da progresijom gastritisa tokom godina, mukoza želuca prolazi kroz sekvencionalne promene koje mogu dovesti do glandularne atrofije, intestinalne metaplazije i povećanog rizika za razvoj gastrične displazije i karcinoma. Postoje osnovane činjenjice da se multifokalni atrofični gastritis razvija sekundarno, kao posljedica dugotrajne infekcije sa *H. pylori* (Genta R.M, 1997). Mogući uzročnici inflamatorne progresije i razvoja atrofije sluznice odnose se na: soj *H. pylori* bakterije (Axon A.T, 1999; Nogueira C, i sar., 2001), starosno doba u kome je infekcija po prvi put nastala, trajanje infekcije i faktori domaćina koje kontrolišu razvoj autoimuniteta (Ernst P.B, i sar., 1997). CagA pozitivni sojevi indukuju progresivniji razvoj atrofičnog gastritisa i gastrične karcinome, upoređeno sa cagA negativnim sojevima *H. pylori* (Kuipers E.J, i sar., 1995), dovode se u vezu sa težim kliničkim ishodom inflamacije (Audibert C, i sar., 2001) i ozbiljnijim oblicima gastritisa (Khedmat H, i sar., 20012). Prisustvo vac-s1 genotipova *H. pylori* dovodi se u vezu sa težim stepenom hroničnih inflamacija, dok vacA-s2 genotipovi izazivaju manje ozbiljan gastritis (Siddique I, i sar., 2014). U našem istraživanju nije pronađen ni jedan uzorak sa histološkim odlikama karakterističnim za atrofični gastritis i intestinalnu metaplaziju. Jedini nalaz kod ispitivanih uzoraka želudačne mukoze je inflamacija svih slojeva mukoze u kojima je jedino prisutna separacija žlezda mukoznim infiltratom. Genta R.M. (1997) preporučuje da termin atrofični gastritis bude korišćen jedino u slučajevima kada je prisutna intestinalna metaplazija ili postoji morfološki identifikovan gubitak žlezda i njihova zamena unutar *lamina propria* ekstracelularnim matriksom ili fibroblastima. Potvrđeno je da su atrofični gastritis i intestinalna metaplazija u pozitivnoj korelaciji sa starosnim dobom i oba su mnogo češći nalaz kod starijih individua (Siurala M, i sar., 1968; Imai T, Maruyama H. 1983). Nalazi Craanen M.E. i sar. (1992) ukazuju da se intestinalna metaplazija češće javlja kod pacijenata sa identifikovanim *H. pylori* sa prosečnim starosnim uzrastom od 64 godine i topografski se najčešće nalazi u antrumu želuca. Uemura N. i sar. (2001) su došli do zaključka da je starosno doba pacijenata sa identifikovanim *H. pylori* i detektovana intestinalna metaplazija bilo 52.3 godine. Incidenca atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije kod pacijenata mlađih od 40 godina je iznosila 14.9% t.j 2.7%, dok kod pacijenata starijih od 60 godina je bila 43.5% t.j 12.3% (Park H.K, i sar., 2012). Esteves M. i sar. (2000) su takođe potvrdili postojanje umerenog do težeg stepena antralnog gastritisa kod mačaka u starosnoj dobi od 5-6 godina, intestinalna metaplazija nije bila zapažena ni u jednom slučaju. Sjunnesson H. i sar. (2003) navode da prilikom perzistentne

petomesečne *H. pylori* infekcije zamoraca, uprkos postojanja teškog stepena gastritisa, nije potvrđeno postojanje atrofije ili bilo kakvih pokazatelja premalignog stanja. Bertram T.A. i sar. (1991) objašnjavaju da infekcija sa *H. pylori* kod svinja, se tipično ne odlikuje intestinalnim metaplazijama. Pirarat N. i sar. (2007) nisu potvrdili nalaz epitelijalne metaplazije ni kod jedne od 115 ispitivanih konvencionalnih svinja, uprkos postojanju umerenog stepena hroničnog gastritisa. Joosten M. i sar. (2013) potvrđuju da je i pored postojanja hroničnih difuznih gastritisa kod osoba inhicirah sa *H. suis*, arhitektura epitela gastričnih žlezda i gastričnih foveola bila normalna, bez ikakvih displastičnih i metaplastičnih promena. Poutahidis T. i sar. (2001) ističu da kod konvencionalnih prasića, kod kojih je *H. pylori* inokulisan u starosnom dobu od 29 dana, a koji su eutanazirani 76-og dana, intestinalna metaplazija nije postojala kao nalaz. Razlog ovakvog rezultata, navode isti autori, je verovatno kratko vreme trajanje infekcije.

Imajući u vidu da su svinje koji su bile predmet našeg istraživanja u prosečnoj starosnoj dobi od 6 meseci, može se pretpostaviti da životno doba životinje nije bilo dovoljno dugo za razvoj dugotrajne perzistentne infekcije sa *H. pylori* koja bi nadalje rezultirala atrofičnim gastritisom i posledičnom intestinalnom metaplazijom. Ovi nalazi su u suprotnosti sa nalazima *H. pylori* infekcije kod ljudi, kod kojih je teška glandularna atrofija udružena sa intestinalnom metaplazijom veoma česta (Uemura N, i sar., 2001). Razlog ovakve suprotstavljenosti, može biti starosno doba ispitivanih jedinki ili razlika u fiziologiji epitela gastrične sluznice kod ove dve vrste. Postoje podaci da vreme potrebno da superficijalni gastritis napreduje u atrofični gastritis i da se atrofija od piloričnih žlezda proširi na fundus je 10 godina, a za razvoj intestinalne metaplazije je potrebno naknadnih 10 godina (Satoh K, i sar., 1996; Kuipers E.J, i sar., 1997). Wyatt J.I. i sar. (1990) smatraju da je gastrična metaplazija ustvari nespecifičan odgovor oštećenja sluznice izazvan između ostalih faktora okolinom i ingestijom iritansa i da se nužno ne povezuje sa *H. pylori* infekcijom.

Smatra se da su atrofični gastritis i intestinalna metaplazija premaligne lezije za razvoj gastričnog kancera (Yoon H, Kim N, 2015). Pomoću detaljnih histoloških studija, dokazano je da proces koji vodi od hroničnog aktivnog gastritisa, preko stadijumima hroničnog atrofičnog gastritisa, intestinalne metaplazije, displazije i konačno do gastričnog karcinoma, traje vrlo dugo, u proseku od 16 do 24 godine (Fujita S, Takanori H, 1977). Sekvencionalne patološke lezije koje vode ka formiranju adenokarcinoma kod čoveka, u kliničkoj veterinarskoj praksi su veoma retko utvrđene (Amorim I, i sar., 2016), a karcinom želuca je izuzetno retka pojava. Izuzetak od ovog

pravila su lasice inficirane bakterijom *Helicobacter mustelae*, koje prolaze kroz sekvencionalne promene koje vode do pojave adenokarcinoma (Fox J.G, i sar., 1997). Mongolski gerbil i hrčak su jedine životinjske vrste kod kojih se nakon infekcije sa *Helicobacter spp.* razvija intestinalna metaplazija slična intestinalnoj metaplaziji koja je evidentirana kod čoveka (Patterson M.M, i sar., 2000; Jenkinson L, i sar., 2002; Nambiar P.R, i sar., 2005). Razvoj gastričnog adenokarcinoma kod mongolskih gerbila je zapažen prilikom infekcije sa *H. pylori*, duže od 62 nedelje (Watanabe T, i sar., 1998). Gastrični kancer nije prijavljen kod modela svinje, verovatno zbog ograničenog vremena uzgajanja, što nije dovoljno za njegov razvoj. Nedostatak podataka o gastričnim neoplazijama kod svinja je verovatno rezultat njihove upotrebe u ishrani, kratkog životnog veka i iskorišćavanju istih u rano (tzv. preneoplastično) doba starosti.

7. ZAKLJUČCI:

Na osnovu rezultata dobijenih u okviru ove doktorske disertacije izvedeni su sledeći zaključci:

1. U grupi svinja uzgajanih na ekstenzivni način prevalenca bakterija *Helicobacter* spp. je bila veća u poređenju sa svinjama uzgajanim na intenzivni način. Semikvantitativnom evaluacijom bakterija *Helicobacter* spp. utvrđena su tri stepena denziteta bakterije HLO morfologije (+, ++, +++) i samo jedan stepen denziteta bakterije GLO morfologije (+).
2. Histološkim ispitivanjem uzoraka *pars fundica* obojenim modifikovanom Giemsom, utvrđeno je da su bakterije HLO morfologije uglavnom pozicionirane u gastričnim foveolama ili u lumenu fundusnih žlezda lociranih u gornjoj trećini *lamina propria*. Bakterije GLO morfologije su takođe pozicionirane u lumenu fundusnih žlezda gornje trećine *lamina propria* ali su uobičajeno u neposrednom kontaktu sa parijetalnim ćelijama.
3. Suprotno humanim hroničnim gastritisima gde je neutrofilna komponenta dominantna i permanentno prisutna, glavninu inflamatornog infiltrata svinja čine mononuklearne ćelije (limfociti i plazma ćelije).
4. Histološka procena želudačne mukoze svinja, pokazala je veći broj želudaca sa normalnom mukozom kod svinja iz ekstenzivnog načina uzgoja, dok je broj hroničnih gastritisa bio veći kod svinja uzgajanih na intenzivni način. Udeo *Helicobacter* speciesa u etiologiji gastritisa je bio veći kod svinja uzgajanih na ekstenzivni način.
5. Komparacijom stepena inflamacije i srednjih vrednosti želuca svinja sa i bez identifikovanih bakterija *Helicobacter* speciesa, evidentiran je teži stepen inflamacije i veće srednje vrednosti kod svinja uzgajanih na intenzivni način.
6. Teži stepeni inflamacije i veće srednje vrednosti bili su zabeležani kod hroničnih gastritisa sa identifikovanim *Helicobacter* spp. za razliku od hroničnih gastritisa kod kojih *Helicobacter* spp. nije identifikovan.
7. *Helicobacter* bakterije izolovane iz želuca svinja pripadaju različitim vrstama i međusobno se razlikuju kako po patogenosti, tako i po virulentnosti. *Helicobacter-like*

bakterije su okarakterisane kao visoko patogene, dok *Gastrospirillum-like* bakterije imaju nisku patogenost.

8. Hronični gastritisi sa identifikovanom bakterijom GLO morfologije su imali blagi stepen gastritisa i niže srednje vrednosti upoređeno sa hroničnim gastritisima sa indentifikovanom bakterijom HLO morfologije. Nije postojala pozitivna korelacija između infekcije sa bakterijama GLO morfologije i ulceracija *pars oesophagea*.
9. Kod hroničnih gastritisa sa identifikovanom bakterijom HLO morfologije utvrđen je umereni ili ozbiljni stepen gastritisa sa ili bez erozija epitela i veće srednje vrednosti upoređeno sa hroničnim gastritisima sa indentifikovanom bakterijom GLO morfologije.
10. Kod svih nalaza hroničnog gastritisa, evidentan je veći stepen inflamacije i više srednje vrednosti u području *pars pylorica* želuca u odnosu na područje *pars fundica*.
11. Limfoidni folikuli u gastričnoj mukozi čoveka su specifični marker za *H. pylori* infekcije, dok je veoma dobro razvijeni gastrični MALT prisutan i kod zdravih odraslih svinja.
12. Za razliku od perzistentnih infekcija sa *H. pylori* kod ljudi kod kojih teška glandularna atrofija udružena sa intestinalnom metaplazijom veoma česta kod ispitivanih svinja iz intenzivnog i ekstenzivnog načina uzgoja nisu potvrđeni slučajevi atrofičnog gastritisa i intestinalne metaplazije.

8. LITERATURA

1. Accioly J.M., Phillips N.D., Robertson I.D., Pethick D.W., Mullan B.P., Hampson D.J.: Links between diet, spiral bacteria in the gastric mucosa and ulceration in the stomach. 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne. 48, 2000.
2. Aihara M., Tsuchimoto D., Imagawa K., Kikuchi M., Mukaida N., Matsushima K.: Signal transduction pathway in the IL-8 production of gastric mucosal cell (MKN-45) induced by H-pylori. *Gastroenterology*. 110(4): A48-A48, 1996.
3. Akira S., Uematsu S., Takeuchi O.: Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 124(4): 783-801, 2006.
4. Akopyants N.S., Clifton S.W., Kersulyte D., Crabtree J.E., Youree B.E., Reece C., Bukanov N.O., Drazek E.S., Roe B.A., Berg D.E.: Analyses of the cag pathogenicity island of *Helicobacter pylori*. *Molecular microbiology*. 28(1): 37-53, 1998.
5. Al-Ali J., Al-Asfar F., Dhar R., Dhar P.M., Kapila K.: Diagnostic performance of gastric imprint smear for determination of *Helicobacter pylori* infection. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 24(10): 603-606, 2010.
6. Aleksić Z., Knežević M., Božić T.: Ezofagogastrični ulkus kod svinja, Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad. 11-17, 1999.
7. Allen A., Cunliffe W.J., Pearson J.P., Sellers L.A., Ward R.: Studies on gastrointestinal mucus. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 93: 101-113, 1984.
8. Alm R.A., Bina J., Andrews B.M., Doig P., Hancock R.E.: Comparative genomics of *Helicobacter pylori*: analysis of the outer membrane protein families. *Infection and immunity*. 68(7): 4155-4168, 2000.
9. Amedei A., Cappon A., Codolo G., Cabrelle A., Polenghi A., Benagiano M., Tasca E., Azzurri A., D'Elia M.M., Del Prete G., de Bernard M.: The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* promotes Th1 immune responses. *Journal of Clinical Investigation*. 116(4): 1092, 2006.

10. Amieva M.R., Salama N.R., Tompkins L.S., Falkow S.: *Helicobacter pylori* enter and survive within multivesicular vacuoles of epithelial cells. *Cellular microbiology*. 4(10): 677-690, 2002.
11. Amorim I., Taulescu M.A., Day M.J., Catoi C., Reis C.A., Carneiro F., Gärtner F.: Canine gastric pathology: a review. *Journal of comparative pathology*. 154(1): 9-37, 2016.
12. Appelmelk B.J., Negrini R., Moran A.P., Kuipers E.J.: Molecular mimicry between *Helicobacter pylori* and the host. *Trends in microbiology*. 5(2): 70-73, 1997.
13. Argenzio R.A., Eisemann J.: Mechanisms of acid injury in porcine gastroesophageal mucosa. *American journal of veterinary research*. 7(4): 564-73, 1996.
14. Armitano R.I., Matteo M.J., Goldman C., Wonaga A., Viola L.A., De Palma G.Z., Catalano M.: *Helicobacter pylori* heterogeneity in patients with gastritis and peptic ulcer disease. *Infection, Genetics and Evolution*. 16: 377-385, 2013.
15. Aspholm-Hurtig M., Dailide G., Lahmann M., Kalia A., Ilver D., Roche N., Vikström S., Sjöström R., Lindén S., Bäckström A., Lundberg C.: Functional adaptation of BabA, the *H. pylori* ABO blood group antigen binding adhesin. *Science*. 305(5683): 519-522, 2004.
16. Atherton J.C., Cao P., Peek R.M., Tummuru M.K., Blaser M.J., Cover T.L.: Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori* association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *Journal of Biological Chemistry*. 270(30): 17771-17777, 1995.
17. Audibert C., Burucoa C., Janvier B., Fauchere J.L.: Implication of the structure of the *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island in induction of interleukin-8 secretion. *Infection and immunity*. 69(3): 1625-1629, 2001.
18. Avilés-Jiménez F., Reyes-Leon A., Nieto-Patlán E., Hansen L.M., Burgueño J., Ramos I.P., Camorlinga-Ponce M., Bermúdez H., Blancas J.M., Cabrera L., Ribas-Aparicio R.M.: In vivo expression of *Helicobacter pylori* virulence genes in patients with gastritis, ulcer, and gastric cancer. *Infection and immunity*. 80(2): 594-601, 2012.
19. Axon AT.: Are all helicobacters equal? Mechanisms of gastroduodenal pathology and their clinical implications. *Gut*. 45(1): I1-4, 1999.
20. Aydin O., Egilmez R., Karabacak T., Kanik A.: Interobserver variation in histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. *World journal of gastroenterology*. 9(10): 2232, 2003.

21. Baskerville A., Newell D.G.: Naturally occurring chronic gastritis and *C pylori* infection in the rhesus monkey: a potential model for gastritis in man. *Gut*. 29(4): 465-472, 1988.
22. Backert S., Kwok T., Schmid M., Selbach M., Moese S., Peek R.M., König W., Meyer T.F., Jungblut P.R.: Subproteomes of soluble and structure-bound *Helicobacter pylori* proteins analyzed by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*. 5(5): 1331-1345, 2005.
23. Baele M., Decostere A., Vandamme P., Ceelen L., Hellemans A., Mast J., Chiers K., Ducatelle R., Haesebrouck F.: Isolation and characterization of *Helicobacter suis* sp. nov. from pig stomachs. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 58(6): 1350-1358, 2008.
24. Bagchi D., McGinn T.R., Ye X., Bagchi M.: *Helicobacter pylori*-induced oxidative stress and DNA damage in a primary culture of human gastric mucosal cells. *Digestive diseases and sciences*. 47(6): 1405, 2002.
25. Baggiolini M., Dewald B., Moser B.: Interleukin-8 and related chemotactic cytokines—CXC and CC chemokines. *Advances in immunology*. 55: 97-179, 1993.
26. Bagnoli F., Buti L., Tompkins L., Covacci A., Amieva M.R.: *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(45): 16339-16344, 2005.
27. Barbosa A.J., Silva J.C., Nogueira A.M., Paulino Jr.E., Miranda C.R.: Higher incidence of *Gastrospirillum* sp. in swine with gastric ulcer of the pars oesophagea. *Veterinary pathology*. 32(2): 134-139, 1995.
28. Bardhan P.K.: Epidemiological features of *Helicobacter pylori* infection in developing countries. *Clinical infectious diseases*. 25(5): 973-978, 1997.
29. Baskerville A., Newell D.G.: Naturally occurring chronic gastritis and *C pylori* infection in the rhesus monkey: a potential model for gastritis in man. *Gut*. 29(4): 465-472, 198.
30. Bayerdörffer E., Oertel H., Lehn N., Kasper G., Mannes G.A., Sauerbruch T., Stolte M.: Topographic association between active gastritis and *Campylobacter pylori* colonisation. *Journal of clinical pathology*. 42(8): 834-839, 1989.

31. Bedel A., Pichard F., Wuscher N., Labigne A., Huerre M.: Prevalence of helicobacter infection and gastric-associated pathologies in swine originating from pork producers in the west of France 12/454. *Gut*. 41(3S): 124A, 1997.
32. Benktander J., Ångström J., Breimer M.E., Teneberg S.: Redefinition of the carbohydrate binding specificity of *Helicobacter pylori* BabA adhesin. *Journal of Biological Chemistry*. 287(38): 31712-31724, 2012.
33. Bernarde C., Lehours P., Lasserre J.P., Castroviejo M., Bonneu M., Mégraud F., Ménard A.: A complexomic study of two *Helicobacter pylori* strains of two pathological origins: potential targets for vaccine development and new insight in bacteria metabolism. *Molecular and Cellular Proteomics*. 9: 2796–2826, 2010.
34. Berstad A.E., Høgåsen K., Bukholm G., Moran A.P., Brandtzaeg P.: Complement activation directly induced by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 120(5): 1108-1116, 2001.
35. Bertram T.A., Krakowka S., Morgan D.R.: Gastritis associated with infection by *Helicobacter pylori*: comparative pathology in humans and swine. *Reviews of infectious diseases*. 13(8): S714-722, 1991.
36. Bik E.M., Eckburg P.B., Gill S.R., Nelson K.E., Purdom E.A., Francois F., Perez-Perez G., Blaser M.J., Relman D.A.: Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103(3): 732-737, 2006.
37. Bizzozero G.: Ueber die schlauchförmigen Drüsen des Magendarmkanals und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächenepithel der Schleimhaut Dritte Mittheilung. *Archiv für mikroskopische Anatomie*. 42(1): 82-152, 1893.
38. Bodger K., Crabtree J.E.: *Helicobacter pylori* and gastric inflammation. *British medical bulletin*. 54(1): 139-150, 1998.
39. Boomkens S.Y., Kusters J.G., Hoffmann G., Pot R.G., Spee B., Penning L.C., Egberink H.F., Ingh T.S., Rothuizen J.: Detection of *Helicobacter pylori* in bile of cats. *Pathogens and Disease*. 42(3): 307-311, 2004.
40. Brodsky I.E., Monack D.: NLR-mediated control of inflammasome assembly in the host response against bacterial pathogens. In *Seminars in immunology*. Academic Press. 21(4): 199-207, 2009.

41. Buck G.E., Gourley W.K., Lee W.K., Subramanyam K., Latimer J.M., DiNuzzo A.R.: Relation of *Campylobacter pyloridis* to gastritis and peptic ulcer. *Journal of Infectious Diseases*. 153(4): 664-669, 1986.
42. Bumann D., Aksu S., Wendland M., Janek K., Zimny-Arndt U., Sabarth N., Meyer T.F., Jungblut P.R.: Proteome analysis of secreted proteins of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Infection and immunity*. 70(7): 3396-3403, 2002.
43. Byrd J.C., Yan P.E., Sternberg L.A., Yunker C.K., Scheiman J.M., Bresalier R.S.: Aberrant expression of gland-type gastric mucin in the surface epithelium of *Helicobacter pylori*-infected patients. *Gastroenterology*. 113(2): 455-464, 1997.
44. Camorlinga-Ponce M., Romo C., Gonzalez-Valencia G., Munoz O., Torres J.: Topographical localisation of *cagA* positive and *cagA* negative *Helicobacter pylori* strains in the gastric mucosa; an in situ hybridisation study. *Journal of clinical pathology*. 57(8): 822-828, 2004.
45. Cantet F., Magras C., Marais A., Federighi M., Mégraud F.: *Helicobacter* species colonizing pig stomach: molecular characterization and determination of prevalence. *Applied and environmental microbiology*. 65(10): 4672-4676, 1999.
46. Cartun R.W., Kryzmowski G.A., Pedersen C.A., Morin S.G., Van Kruiningen H.J., Berman M.M.: Immunocytochemical identification of *Helicobacter pylori* in formalin-fixed gastric biopsies. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 4(4): 498-502, 1991.
47. Cassaro M., Rugge M., Gutierrez O., Leandro G., Graham D.Y., Genta R.M.: Topographic patterns of intestinal metaplasia and gastric cancer. *The American journal of gastroenterology*. 95(6): 1431-1438, 2000.
48. Celli J.P., Turner B.S., Afdhal N.H., Keates S., Ghiran I., Kelly C.P., Ewoldt R.H., McKinley G.H., So P., Erramilli S., Bansil R.: *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106(34): 14321-14326, 2009.
49. Chan W.Y., Hui P.K., Leung K.M., Chow J., Kwok F., Ng C.S.: Coccoid forms of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *American journal of clinical pathology*. 102(4): 503-507, 1994.

50. Chen X.Y., van Der Hulst R.W., Bruno M.J., van der Ende A., Xiao S.D., Tytgat G.N., Ten Kate F.J.: Interobserver variation in the histopathological scoring of *Helicobacter pylori* related gastritis. *Journal of clinical pathology*. 52(8): 612-615, 1999.
51. Chiarini A., Calà C., Bonura C., Gullo A., Giuliana G., Peralta S., D'Arpa F., Giammanco A.: Prevalence of virulence-associated genotypes of *Helicobacter pylori* and correlation with severity of gastric pathology in patients from western Sicily, Italy. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases*. 28(5): 437-446, 2009.
52. Choi Y.K., Han J.H., Joo H.S.: Identification of Novel *Helicobacter* Species in Pig Stomachs by PCR and Partial Sequencing. *Journal of clinical microbiology*. 39(9): 3311-3315, 2001.
53. Clément M.V., Pervaiz S.: Reactive oxygen intermediates regulate cellular response to apoptotic stimuli: an hypothesis. *Free radical research*. 30(4): 247-252, 1999.
54. Colletti R.B., Trainer T.D.: Collagenous gastritis. *Gastroenterology*. 97: 1552-1555, 1989.
55. Correa P., Houghton J.: Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 133(2): 659-672, 2007.
56. Correa P., Yardley J.H.: Grading and classification of chronic gastritis: one American response to the Sydney system. *Gastroenterology*. 102(1): 355-359, 1992.
57. Correa P.: Chronic gastritis: a clinico-pathological classification. *American Journal of Gastroenterology*. 83(5): 504-509, 1988.
58. Correa P.: A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res*. 48(13): 3554-3560, 1988a.
59. Correa P.: Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer research*. 52(24): 6735-6740, 1992.
60. Couturier M.R., Tasca E., Montecucco C., Stein M.: Interaction with CagF is required for translocation of CagA into the host via the *Helicobacter pylori* type IV secretion system. *Infection and immunity*. 74(1): 273-281, 2006.
61. Cover T.L., Blanke S.R.: *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*. 3: 320-332, 2005.
62. Cover T.L., Blaser M.J.: *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology*. 136(6): 1863-1873, 2009.
63. Cover T.L., Blaser M.J.: Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. *Journal of Biological Chemistry*. 267(15): 10570-10575, 1992.

64. Craanen M.E., Dekker W., Blok P., Ferwerda J., Tytgat G.N.: Intestinal metaplasia and *Helicobacter pylori*: an endoscopic bioptic study of the gastric antrum. *Gut*. 33(1): 16-20, 1992.
65. Crabtree J.E., Court M., Aboshkiwa M.A., Jeremy A.H., Dixon M.F., Robinson P.A.: Gastric mucosal cytokine and epithelial cell responses to *Helicobacter pylori* infection in Mongolian gerbils. *The Journal of pathology*. 202(2): 197-207, 2004.
66. Crabtree J.E., Peichl P., Wyatt J.I., Stachl U., Lindley I.J.: Gastric Interleukin-8 and IgA IL-8 Autoantibodies in *Helicobacter pylori* Infection. *Scandinavian journal of immunology*. 37(1): 65-70, 1993.
67. Crabtree J.E., Wyatt J.I., Trejdosiewicz L.K., Peichl P., Nichols P.H., Ramsay N., Primrose J.N., Lindley I.J.: Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa. *Journal of clinical pathology*. 47(1): 61-66, 1994.
68. Davies G.R., Banatvala N., Collins C.E., Sheaff M.T., Abdi Y., Clements L., Rampton D.S.: Relationship between infective load of *Helicobacter pylori* and reactive oxygen metabolite production in antral mucosa. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 29(5): 419-424, 1994.
69. De Bernard M., D'elios M.M.: The immune modulating activity of the *Helicobacter pylori* HP-NAP: Friend or foe?. *Toxicon*. 56(7): 1186-1192, 2010.
70. De Groote D., van Doorn L.J., Ducatelle R., Verschuuren A., Haesebrouck F., Quint W.G., Jalava K., Vandamme P.: "Candidatus *Helicobacter suis*", a gastric helicobacter from pigs, and its phylogenetic relatedness to other gastrospirilla. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 49(4): 1769-1777, 1999.
71. De Groote D., Ducatelle R., Van Doorn L.J., Tilmant K., Verschuuren A., Haesebrouck F.: Detection of "Candidatus *Helicobacter suis*" in gastric samples of pigs by PCR: comparison with other invasive diagnostic techniques. *Journal of clinical microbiology*. 38(3): 1131-1135, 2000.
72. De Guzman B.B., Hisatsune J., Nakayama M., Yahiro K., Wada A., Yamasaki E., Nishi Y., Yamazaki S., Azuma T., Ito Y., Ohtani M.: Cytotoxicity and recognition of receptor-like protein tyrosine phosphatases, RPTP α and RPTP β , by *Helicobacter pylori* m2VacA. *Cellular microbiology*. 7(9): 1285-1293, 2005.

73. De Jonge R., Durrani Z., Rijpkema S.G., Kuipers E.J., van Vliet A.H., Kusters J.G.: Role of the *Helicobacter pylori* outer-membrane proteins AlpA and AlpB in colonization of the guinea pig stomach. *Journal of medical microbiology*. 53(5): 375-379, 2004.
74. Rossi G., Rossi M., Vitali C.G., Fortuna D., Burrioni D., Pancotto L., Capecchi S., Sozzi S., Renzoni G., Braca G., Del Giudice G.: A conventional beagle dog model for acute and chronic infection with *Helicobacter pylori*. *Infection and immunity*. 67(6):3112-3120, 1999.
75. Del Giudice G., Michetti P.: Inflammation, immunity and vaccines for *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 9(1): 23-28, 2004.
76. D'Ellos M.M., Manghetti M., De Carli M., Costa F., Baldari C.T., Burrioni D., Telford J.L., Romagnani S., Del Prete G.: T helper 1 effector cells specific for *Helicobacter pylori* in the gastric antrum of patients with peptic ulcer disease. *The Journal of Immunology*. 158(2): 962-967, 1997.
77. Dempsey P.J., Goldenring J.R., Soroka C.J., Modlin I.M., McClure R.W., Lind C.D., Ahlquist D.A., Pittelkow M.R., Lee D.C., Sandgren E.P., Page D.L.: Possible role of transforming growth factor α in the pathogenesis of Menetrier's disease: supportive evidence from humans and transgenic mice. *Gastroenterology*. 103(6): 1950-1963, 1992.
78. Dieterich C., Wiesel P., Neiger R., Blum A., Corthésy-Theulaz I.: Presence of multiple “*Helicobacter heilmannii*” strains in an individual suffering from ulcers and in his two cats. *Journal of clinical microbiology*. 36(5): 1366-1370, 1998.
79. Lei D.H., Zeng H., Huang L.P., Dong Y.D., Duan Y.J., Mao X.H., Guo G., Zou Q.M.: *Helicobacter pylori* chaperone-like protein CagT plays an essential role in the translocation of CagA into host cells. *Journal of microbiology and biotechnology*. 22(10): 1343-1349, 2012.
80. Dixon M.F., Wyatt J.I., Burke D.A., Rathbone B.J.: Lymphocytic gastritis—relationship to *Campylobacter pylori* infection. *The Journal of pathology*. 154(2): 125-132, 1988.
81. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H., Correa P.: Histological classification of gastritis and *Helicobacter pylori* infection: An agreement at last?. *Helicobacter*. 2(1): 17-24, 1997.
82. Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H., Correa P.: Classification and grading of gastritis: the updated Sydney system. *The American journal of surgical pathology*. 20(10): 1161-1181, 1996.

83. Donahue J.P., Peek R.M., Van Doorn L.J., Thompson S.A., Xu Q., Blaser M.J., Miller G.G.: Analysis of iceA1 transcription in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 5(1): 1-2, 2000.
84. Dore M.P., Sepulveda A.R., El-Zimaity H., Yamaoka Y., Osato M.S., Mototsugu K., Nieddu A.M., Realdi G., Graham D.Y.: Isolation of *Helicobacter pylori* from sheep—implications for transmission to humans. *The American journal of gastroenterology*. 96(5): 1396-1401, 2001.
85. Dossumbekova A., Prinz C., Mages J., Lang R., Kusters J.G., Van Vliet A.H., Reindl W., Backert S., Saur D., Schmid R.M., Rad R.: *Helicobacter pylori* HopH (OipA) and bacterial pathogenicity: genetic and functional genomic analysis of hopH gene polymorphisms. *The Journal of infectious diseases*. 194(10): 1346-1355, 2006.
86. Dubois A., Berg D.E., Incecik E.T., Fiala N., Heman-Ackah L.M., Perez-Perez G.I., Blaser M.J.: Transient and persistent experimental infection of nonhuman primates with *Helicobacter pylori*: implications for human disease. *Infection and immunity*. 64(8): 2885-2891, 1996.
87. Dubois A., Borén T.: *Helicobacter pylori* is invasive and it may be a facultative intracellular organism. *Cellular microbiology*. 9(5): 1108-1116, 2007.
88. Dubreuil J.D., Del Giudice G., Rappuoli R.: *Helicobacter pylori* interactions with host serum and extracellular matrix proteins: potential role in the infectious process. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 66(4): 617-629, 2002.
89. Dundon W.G., Nishioka H., Polenghi A., Papinutto E., Zanotti G., Montemurro P., Del Giudice G., Rappuoli R., Montecucco C.: The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori*. *International journal of medical microbiology*. 291(6):545-50, 2001.
90. Eaton K.A., Morgan D.R., Krakowka S.: *Campylobacter pylori* virulence factors in gnotobiotic piglets. *Infection and immunity*. 57(4): 1119-1125, 1989.
91. Eaton K.A., Morgan D.R., Krakowka S.: Persistence of *Helicobacter pylori* in conventionalized piglets. *Journal of Infectious Diseases*. 161(6): 1299-1301, 1990.
92. Eaton K.A., Radin M.J., Kramer L., Wack R., Sherding R., Krakowka S., Fox J.G., Morgan D.R.: Epizootic gastritis associated with gastric spiral bacilli in cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Veterinary Pathology*. 30(1): 55-63, 1993.
93. Eaton K.A., Dewhirst F.E., Paster B.J., Tzellas N., Coleman B.E., Paola J., Sherding R.: Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs:

- animal and public health implications. *Journal of Clinical Microbiology*. 34(12): 3165-3170, 1996.
94. Eaton K.A., Brooks C.L., Morgan D.R., Krakowka S.: Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infection and immunity*. 59(7): 2470-2475, 1991.
95. Eaton K.A., Mefford M., Thevenot T.: The role of T cell subsets and cytokines in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* gastritis in mice. *The Journal of Immunology*. 166(12): 7456-7461, 2001.
96. Eaton K.A., Morgan D.R., Krakowka S.: Motility as a factor in the colonisation of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori*. *Journal of Medical Microbiology*. 37(2): 123-127, 1992.
97. Eck M., Schmausser B., Scheller K., Toksoy A., Kraus M., Menzel T., Muller-Hermelink H.K., Gillitzer R.: CXC chemokines Gro (α)/IL-8 and IP-10/MIG in *Helicobacter pylori* gastritis. *Clin Exp Immunol*. 122: 192-199, 2000.
98. Eisemann J.H., Argenzio R.A.: Effects of diet and housing density on growth and stomach morphology in pigs. *Journal of animal science*. 77(10): 2709-2714, 1999.
99. Elbers A.R., Dirkzwager A.: Changes in stomach mucosa in swine: a literature review. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*. 119(22): 669-674, 1994.
100. El Demellawy D., Otero C., Radhi J.: Primary gastric lymphoma with florid granulomatous reaction. *J. Gastrointest. Liver Dis*. 18(1): 99-101, 2009.
101. El-Zimaity H.M., Graham D.Y., Al-Assi M.T., Malaty H., Karttunen T.J., Graham D.P., Huberman R.M., Genta R.M.: Interobserver variation in the histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. *Human pathology*. 27(1): 35-41, 1996.
102. El-Zimaity H.M., Gutierrez O., Kim J.G., Akamatsu T., Güreş I.E., Simjee A.E., Graham D.Y.: Geographic differences in the distribution of intestinal metaplasia in duodenal ulcer patients. *The American journal of gastroenterology*. 96(3): 666-672, 2001.
103. El-Zimaity H.M., Ota H., Graham D.Y., Akamatsu T., Katsuyama T.: Patterns of gastric atrophy in intestinal type gastric carcinoma. *Cancer*. 94(5): 1428-1436, 2002.
104. El-Zimaity H.: Gastritis and gastric atrophy. *Curr. Opin. Gastroenterol*. 24: 682-686, 2008.

105. Engstrand L., Gustavsson S., Jörgensen A., Schwan A., Scheynius A.: Inoculation of barrier-born pigs with *Helicobacter pylori*: a useful animal model for gastritis type B. *Infection and immunity*. 58(6): 1763-1768, 1990.
106. Ernst P.B., Crowe S.E., Reyes V.E.: How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? The inflammatory response. *Gastroenterology*. 113(6): 35-42, 1997.
107. Esteves M.I., Schrenzel M.D., Marini R.P., Taylor N.S., Xu S., Hagen S., Feng Y., Shen Z., Fox J.G.: *Helicobacter pylori* gastritis in cats with long-term natural infection as a model of human disease. *The American journal of pathology*. 156(2): 709-721, 2000.
108. Evans D.J., Evans D.G., Takemura T., Nakano H., Lampert H.C., Graham D.Y., Granger D.N., Kvietys P.R.: Characterization of a *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein. *Infection and immunity*. 63(6): 2213-2220, 1995.
109. Exner M.M., Doig P., Hancock R.E.: Isolation and characterization of a family of porin proteins from *Helicobacter pylori*. *Infection and immunity*. 63(4): 1567-1572, 1995.
110. Figura N., Crabtree J.E.: *H. pylori* vacuolating toxin. In: Hunt R.H., Tytgat G.N.J. (eds) *Helicobacter pylori*. Basic Mechanisms to Clinical Cure. Lancaster, UK: Kluwer Academic 222-223, 1994.
111. Filipe M.I., Muñoz N., Matko I., Kato I., Pompe-Kirn V., Jutersek A., Teuchmann S., Benz M., Prijon T.: Intestinal metaplasia types and the risk of gastric cancer: a cohort study in Slovenia. *International journal of cancer*. 57(3): 324-329, 1994.
112. Fiocca R., Luinetti O., Villani L., Chiaravalli A.M., Capella C., Solcia E.: Epithelial cytotoxicity, immune responses, and inflammatory components of *Helicobacter pylori* gastritis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 29(205): 11-21, 1994.
113. Fowler M., Thomas R.J., Atherton J., Roberts I.S., High N.J.: Galectin-3 binds to *Helicobacter pylori* O-antigen: it is upregulated and rapidly secreted by gastric epithelial cells in response to *H. pylori* adhesion. *Cellular microbiology*. 8(1): 44-54, 2006.
114. Fox J.G., Correa P., Taylor N.S., Lee A., Otto G., Murphy J.C., Rose R.: *Helicobacter mustelae*-associated gastritis in ferrets: an animal model of *Helicobacter pylori* gastritis in humans. *Gastroenterology*. 99(2): 352-361, 1990.
115. Fox J.G., Otto G.L., Taylor N.S., Rosenblad W.I., Murphy J.C.: *Helicobacter mustelae*-induced gastritis and elevated gastric pH in the ferret (*Mustela putorius furo*). *Infection and immunity*. 59(6): 1875-1880, 1991.

116. Fox J.G., Otto G., Murphy J.C., Taylor N.S., Lee A.: Gastric colonization of the ferret with *Helicobacter* species: natural and experimental infections *Reviews of infectious diseases*. 13(8): 671-680, 1991a.
117. Fox J.G., Dangler C.A., Sager W., Borkowski R., Gliatto J.M.: *Helicobacter mustelae*-associated gastric adenocarcinoma in ferrets (*Mustela putorius furo*). *Veterinary pathology*. 34(3): 225-229, 1997.
118. Fox J.G.: Non-human reservoirs of *Helicobacter pylori*. *Alimentary pharmacology and therapeutics*. 9: 93-103, 1994.
119. Franco A.T., Israel D.A., Washington M.K., Krishna U., Fox J.G., Rogers A.B., Neish A.S., Collier-Hyams L., Perez-Perez G.I., Hatakeyama M., Whitehead R.: Activation of β -catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(30): 10646-10651, 2005.
120. Friendship R.M.: Gastric ulcers. *Pig News and Information*. 24: 5N-48N, 2003.
121. Fritz J.H., Le Bourhis L., Sellge G., Magalhaes J.G., Fsihi H., Kufer T.A., Collins C., Viala J., Ferrero R.L., Girardin S.E., Philpott D.J.: Nod1-mediated innate immune recognition of peptidoglycan contributes to the onset of adaptive immunity. *Immunity*. 26(4): 445-459, 2007.
122. Fujimoto S., Ojo O.O., Arnqvist A., Wu J.Y., Odenbreit S., Haas R., Graham D.Y., Yamaoka Y.: *Helicobacter pylori* BabA expression, gastric mucosal injury, and clinical outcome. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 5(1): 49-58, 2007.
123. Fujimura S., Kawamura T., Kato S., Tateno H., Watanabe A.: Detection of *Helicobacter pylori* in cow's milk. *Letters in Applied Microbiology*. 35(6): 504-507, 2002.
124. Fujita S., Takanori H.: Cell proliferation, differentiation and migration in the gastric mucosa: a study of the background of carcinogenesis. In: Farber E., et al, eds. *Pathophysiology of carcinogenesis in digestive organs*. Tokyo: University of Tokyo Press, 21-36, 1977.
125. Garner J.A., Cover T.L.: Binding and internalization of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin by epithelial cells. *Infection and Immunity*. 64(10): 4197-4203, 1996.
126. Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn T.: Family II. *Helicobacteraceae* fam. nov. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2(Part C): 1168, 2005.

127. Garside P., Mowat A.M.: Polarization of Th-cell responses: a phylogenetic consequence of nonspecific immune defence? *Immunology today*. 16(5): 220-223, 1995.
128. Gauthier N.C., Monzo P., Kaddai V., Doye A., Ricci V., Boquet P.: Helicobacter pylori VacA cytotoxin: a probe for a clathrin-independent and Cdc42-dependent pinocytic pathway routed to late endosomes. *Molecular biology of the cell*. 16(10): 4852-4866, 2005.
129. Geis G., Suerbaum S., Forsthoff B., Lying H., Opferkuch W.: Ultrastructure and biochemical studies of the flagellar sheath of Helicobacter pylori. *Journal of medical microbiology*. 38(5): 371-377, 1993.
130. Genta R.M.: Helicobacter pylori, inflammation, mucosal damage, and apoptosis: pathogenesis and definition of gastric atrophy. *Gastroenterology*. 113(6): 51-55, 1997.
131. Genta R.M., Hamner H.W.: The significance of lymphoid follicles in the interpretation of gastric biopsy specimens. *Archives of pathology and laboratory medicine*. 118(7): 740-743, 1994.
132. Genta R.M., Robason G.O., Graham D.Y.: Simultaneous visualization of Helicobacter pylori and gastric morphology: a new stain. *Human pathology*. 25(3): 221-226, 1994.
133. Genta R.M.: Recognizing atrophy: another step toward a classification of gastritis. *The American journal of surgical pathology*. 20: 23-30, 1996.
134. Georgiades P., Pudney P.D., Thornton D.J., Waigh T.A.: Particle tracking microrheology of purified gastrointestinal mucins. *Biopolymers*. 101(4): 366-377, 2014.
135. Gerhard M., Lehn N., Neumayer N., Borén T., Rad R., Schepp W., Miehle S., Classen M., Prinz C.: Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96(22): 12778-12783, 1999.
136. Gerhard M., Schmees C., Volland P., Endres N., Sander M., Reindl W., Rad R., Oelsner M., Decker T., Mempel M., Hengst L.: A secreted low--molecular-weight protein from Helicobacter pylori induces cell-cycle arrest of T cells. *Gastroenterology*. 128(5): 1327-1339, 2005.
137. Gilman R.J., Leon-Bania R., Koch J., Ramirez-Ramos A., Recavarren S., Spira W.M., Stephenson C.B., Barreda C., Quevedo N., Rodriguez C.: Rapid identification of pyloric Campylobacter in Peruvians with gastritis. *Dig. Dis. Sci*. 31: 1089-1094, 1986.

138. Giuliani G., Fumarola D., Pece S., Moran A.P.: Effect of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide (LPS) and LPS derivatives on the production of tissue factor and plasminogen activator inhibitor type 2 by human blood mononuclear cells. *J. Infect. Dis.* 174: 1255-1260, 1996.
139. Gobert A.P., Bambou J.C., Werts C., Balloy V., Chignard M., Moran A.P., Ferrero R.L.: *Helicobacter pylori* heat shock protein 60 mediates interleukin-6 production by macrophages via a toll-like receptor (TLR)-2-, TLR-4-, and myeloid differentiation factor 88-independent mechanism. *Journal of Biological Chemistry.* 279(1): 245-250, 2004.
140. Gomes C.A., Catapani W.R., Mader A.M., Locatelli A., Silva C.B., Waisberg J.: Antral exfoliative cytology for the detection of *Helicobacter pylori* in the stomach. *World J.Gastroenterol.* 11(18): 2784-2788, 2005.
141. Gong M., Ling S.S., Lui S.Y., Yeoh K.G., Ho B.: *Helicobacter pylori* γ -glutamyl transpeptidase is a pathogenic factor in the development of peptic ulcer disease. *Gastroenterology.* 139(2): 564-573, 2010.
142. Goodwin C.S., Armstrong J.A.: Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 9(1): 1-3, 1990.
143. Goodwin C.S., McCulloch R.K., Armstrong J.A., Wee S.H.: Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *Journal of medical microbiology.* 19(2): 257-267, 1985.
144. Gorrell R.J., Guan J., Xin Y., Tafreshi M.A., Hutton M.L., McGuckin M.A., Ferrero R.L., Kwok T.: A novel NOD1-and CagA-independent pathway of interleukin-8 induction mediated by the *Helicobacter pylori* type IV secretion system. *Cellular microbiology.* 15(4): 554-570, 2013.
145. Graham D.Y., Smith J.L., Alpert L.C., Yoshimura H.H.: Epidemic achlorhydria is not viral but is caused by *Campylobacter pyloridis*. *Gastroenterology.* 92(5): 1412-1412, 1987.
146. Graham D.Y., Genta R.M.: Reinfection with *Helicobacter* In: Hunt R.H., Tytgat G.N.J. eds. *Helicobacter pylori: basic mechanisms to clinical cure.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 113-120, 1994.
147. Graham D.Y., Nurgalieva Z.Z., El-Zimaity H.M., Opekun A.R., Campos A., Guerrero L., Chavez A., Cardenas V.: Noninvasive versus histologic detection of gastric atrophy in a

- Hispanic population in North America. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 4(3): 306-314, 2006.
148. Grasso G.M., Ripabelli G., Sammarco M.L., Ruberto A., Iannitto G.: Prevalence of *Helicobacter*-like organisms in porcine gastric mucosa: a study of swine slaughtered in Italy. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 19(3): 213-217, 1996.
149. Grebowska A., Moran A.P., Matusiak A.G., Bak-Romaniszyn L., Czkwianianc E.L., Rechciński T.O., Walencka M.A., Płaneta-Małecka I.Z., Rudnicka W.I., Chmiela M.A.: Anti-phagocytic activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide (LPS)--possible modulation of the innate immune response to these bacteria. *Pol. J. Microbiol.* 57(3): 185-192, 2008.
150. Green W.B., Eaton K., Krakowka S.: Porcine gastric mucosa associated lymphoid tissue (MALT): Stimulation by colonization with the gastric bacterial pathogen, *Helicobacter pylori*. *Veterinary immunology and immunopathology*. 56(1-2): 119-131, 1997.
151. Gupta V.R., Patel H.K., Kostolansky S.S., Ballivian R.A., Eichberg J., Blanke S.R.: Sphingomyelin functions as a novel receptor for *Helicobacter pylori* VacA. *PLoS pathogens*. 4(5): 1000073, 2008.
152. Guruge J.L., Falk P.G., Lorenz R.G., Dans M., Wirth H.P., Blaser M.J., Berg D.E., Gordon J.I.: Epithelial attachment alters the outcome of *Helicobacter pylori* infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 95(7): 3925-39230, 1998.
153. Haesebrouck F., Pasmans F., Flahou B., Chiers K., Baele M., Meyns T., Decostere A., Ducatelle R.: Gastric helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clinical microbiology reviews*. 22(2): 202-223, 2009.
154. Hammermeister I., Janus G., Schamarowski F., Rudolf M., Jacobs E., Kist M.: Elevated risk of *Helicobacter pylori* infection in submarine crews. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 11(1): 9-14, 1992.
155. Han S.R., Schindel C., Genitsariotis R., Märker-Hermann E., Bhakdi S., Maeurer M.J.: Identification of a unique *Helicobacter* species by 16S rRNA gene analysis in an abdominal abscess from a patient with X-linked hypogammaglobulinemia. *Journal of clinical microbiology*. 38(7): 2740-2742, 2000.
156. Handa O., Naito Y., Yoshikawa T.: *Helicobacter pylori*: a ROS-inducing bacterial species in the stomach. *Inflammation Research*. 59(12): 997-1003, 2010.

157. Handt L.K., Fox J.G., Dewhirst F.E., Fraser G.J., Paster B.J., Yan L.L., Rozmiarek H., Rufo R., Stalis I.H.: *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. *Infection and immunity*. 62(6): 2367-2374, 1994.
158. Hänninen M.L., Utriainen M., Happonen I., Dewhirst F.E.: *Helicobacter* sp. *flexispira* 16S rDNA taxa 1, 4 and 5 and Finnish porcine *Helicobacter* isolates are members of the species *Helicobacter troglodytes* (taxon 6). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 53(2): 425-433, 2003.
159. Hansson G.C., Johansson M.E.: The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Gut. microbes*. 1(1): 51-54, 2010.
160. Haot J., Berger F., Andre C., Moulinier B., Mainguet P., Lambert R.: Lymphocytic gastritis versus varioliform gastritis. A historical series revisited. *The Journal of pathology*. 158(1): 19-22, 1989.
161. Harris P.R., Wright S.W., Serrano C., Riera F., Duarte I., Torres J., Peña A., Rollán A., Viviani P., Guiraldes E., Schmitz J.M.: *Helicobacter pylori* gastritis in children is associated with a regulatory T-cell response. *Gastroenterology*. 134(2): 491-499, 2008.
162. Hassall E., Dimmick J.E.: Unique features of *Helicobacter pylori* disease in children. *Digestive diseases and sciences*. 36(4): 417-423, 1991.
163. Hatz R.A., Meimarakis G., Bayerdörffer E., Stolte M., Kirchner T., Enders G.: Characterization of lymphocytic infiltrates in *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 31(3): 222-228, 1996.
164. Hayashi F., Smith K.D., Ozinsky A., Hawn T.R., Eugene C.Y., Goodlett D.R., Eng J.K., Akira S., Underhill D.M., Aderem A.: The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*. 410(6832): 1099-1103, 2001.
165. Hazell S., Lee A.: *Campylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back diffusion, and gastric ulcers. *The Lancet*. 328(8497): 15-17, 1986.
166. Heilmann K.L., Borchard F.: Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut*. 32(2): 137-140, 1991.
167. Hellemans A., Chiers K., Decostere A., Bock M.D., Haesebrouck F., Ducatelle R.: Experimental infection of pigs with 'Candidatus *Helicobacter suis*'. *Veterinary research communications*. 31(4): 385-395, 2007a.

168. Hellemans A., Chiers K., De Bock M., Decostere A., Haesebrouck F., Ducatelle R., Maes D.: Prevalence of 'Candidatus *Helicobacter suis*' in pigs of different ages. *The Veterinary record*. 161(6): 189-192, 2007.
169. Henry G.A., Long P.H., Burns J.L., Charbonneau D.L.: Gastric spirillosis in beagles. *American journal of veterinary research*. 48(5): 831-836, 1987.
170. Hessing M.J., Geudeke M.J., Scheepens C.J., Tielen M.J., Schouten W.G., Wiepkema P.R.: Mucosal lesions in the pars esophagus in swine: prevalence and the effect of stress. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*. 117(15-16): 445-450, 1992.
171. Hidaka E., Ota H., Hidaka H., Hayama M., Matsuzawa K., Akamatsu T., Nakayama J., Katsuyama T.: *Helicobacter pylori* and two ultrastructurally distinct layers of gastric mucous cell mucins in the surface mucous gel layer. *Gut*. 49(4): 474-480, 2001.
172. Hildebrandt E., McGee D.J.: *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide modification, Lewis antigen expression, and gastric colonization are cholesterol-dependent. *BMC microbiology*. 9(1): 258, 2009.
173. Hisamatsu T., Suzuki M., Reinecker H.C., Nadeau W.J., McCormick B.A., Podolsky D.K.: CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*. 124(4): 993-1000, 2003.
174. Hoy B., Brandstetter H., Wessler S.: The stability and activity of recombinant *Helicobacter pylori* HtrA under stress conditions. *Journal of basic microbiology*. 53(5): 402-409, 2013.
175. Hoy B., Geppert T., Boehm M., Reisen F., Plattner P., Gadermaier G., Sewald N., Ferreira F., Briza P., Schneider G., Backert S.: Distinct roles of secreted HtrA proteases from gram-negative pathogens in cleaving the junctional protein and tumor suppressor E-cadherin. *Journal of Biological Chemistry*. 287(13): 10115-10120, 2012.
176. Hoy B., Löwer M., Weydig C., Carra G., Tegtmeyer N., Geppert T., Schröder P., Sewald N., Backert S., Schneider G., Wessler S.: *Helicobacter pylori* HtrA is a new secreted virulence factor that cleaves E-cadherin to disrupt intercellular adhesion. *EMBO reports*. 11(10): 798-804, 2010.
177. Huang C.H., Chiou S.H.: Proteomic analysis of upregulated proteins in *Helicobacter pylori* under oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 27(12): 544-553, 2011.

178. Hussein N.R., Argent R.H., Marx C.K., Patel S.R., Robinson K., Atherton J.C.: *Helicobacter pylori* dupA is polymorphic, and its active form induces proinflammatory cytokine secretion by mononuclear cells. *The Journal of infectious diseases*. 202(2): 261-269, 2010.
179. Hussein N.R.: A study of *Helicobacter pylori* outer-membrane proteins (hom) A and B in Iraq and Turkey. *Journal of infection and public health*. 4(3): 135-139, 2011.
180. Ierardi E., Monno R.A., Gentile A., Francavilla R., Burattini O., Marangi S., Pollice L., Francavilla A.: *Helicobacter heilmannii* gastritis: a histological and immunohistochemical trait. *Journal of clinical pathology*. 54(10): 774-777, 2001.
181. Ikeda K., Kumashiro R., Kifune T.: Nine cases of acute gastric anisakiasis. *Gastrointestinal endoscopy*. 35(4): 304-308, 1989.
182. Ikeno T., Ota H., Sugiyama A., Ishida K., Katsuyama T., Genta R.M., Kawasaki S.: *Helicobacter pylori*-induced chronic active gastritis, intestinal metaplasia, and gastric ulcer in Mongolian gerbils. *The American journal of pathology*. 154(3): 951-960, 1999.
183. Ilver D., Arnqvist A., Ögren J., Frick I.M., Kersulyte D., Incecik E.T., Berg D.E., Covacci A., Engstrand L., Borén T.: *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science*. 279(5349): 373-377, 1998.
184. Ilver D., Barone S., Mercati D., Lupetti P., Telford J.L.: *Helicobacter pylori* toxin VacA is transferred to host cells via a novel contact-dependent mechanism. *Cellular microbiology*. 6(2): 167-174, 2004.
185. Imai T., Murayama H.: Time trend in the prevalence of intestinal metaplasia in Japan. *Cancer*. 52(2): 353-361, 1983.
186. Imamura S., Kita M., Yamaoka Y., Yamamoto T., Ishimaru A., Konishi H., Wakabayashi N., Mitsufuji S., Okanoue T., Imanishi J.: Vector potential of cockroaches for *Helicobacter pylori*. *Am. J. gastroenterol*. 1500-1503, 2003.
187. Ishii K.J., Koyama S., Nakagawa A., Coban C., Akira S.: Host innate immune receptors and beyond: making sense of microbial infections. *Cell host and microbe*. 3(6): 352-363, 2008.
188. Israel D.A., Peek R.M.: Pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. *Alimentary pharmacology and therapeutics*. 15(9): 1271-1290, 2001.

189. Ito Y., Vela J.L., Matsumura F., Hoshino H., Tyznik A., Lee H., Girardi E., Zajonc D.M., Liddington R., Kobayashi M., Bao X., Bugaytsova J., Boren T., Jin R., Zong Y., Seeberger P.H., Nakayama J., Kronenberg M., Fukuda M.: *Helicobacter pylori* cholesteryl alpha-glucosides contribute to its pathogenicity and immune response by natural killer T cells. *PLoS ONE* 8(12): 78191, 2013.
190. Iwamoto H., Czajkowsky D.M., Cover T.L., Szabo G., Shao Z.: VacA from *Helicobacter pylori*: a hexameric chloride channel. *FEBS letters*. 450(1-2): 101-104, 1999.
191. Jacobson B.C., Crawford J.M., Farraye F.A.: GI tract endoscopic and tissue processing techniques and normal histology in surgical pathology of the GI tract, In: Liver, Biliary Tract and Pancreas, R. D. Odze and J. R. Goldblum, Eds., Elsevier, 2009.
192. Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W.: World Health Organization Classification of tumours, Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. 3rd edn., vol 3. IARC Press. Lyon, France. 2001.
193. Jalava K., Kaartinen M., Utriainen M., Happonen I., Hänninen M.L.: *Helicobacter salomonis* sp. nov., a canine gastric *Helicobacter* sp. related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 47(4): 975-982, 1997.
194. Janeway C.A., Medzhitov R.: Innate immune recognition. *Annual review of immunology*. 20(1): 197-216, 2002.
195. Jenkinson L., Bardhan K.D., Atherton J., Kalia N.: *Helicobacter pylori* prevents proliferative stage of angiogenesis in vitro: role of cytokines. *Digestive diseases and sciences*. 47(8): 1857-1862, 2002.
196. Jonckheere N., Skrypek N., Frénois F., Van Seuningen I.: Membrane-bound mucin modular domains: from structure to function. *Biochimie*. 95(6): 1077-1086, 2013.
197. Jones D.M., Elridge J.: Gastric campylobacter-like organisms from man (*C. pyloridis*) compared with GCLO strains from the pig, baboon and ferret. In: *Campylobacter IV*, Kaijser B, Falsen E, editors. Göteborg, Sweden: University of Göteborg; p. 44. 1990.
198. Joo M., Kwak J.E., Chang S.H., Kim H., Chi J.G., Kim K.A., Yang J.H., Lee J.S., Moon Y.S., Kim K.M.: *Helicobacter heilmannii*-associated gastritis: clinicopathologic findings and comparison with *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Journal of Korean medical science*. 22(1): 63-69, 2007.

199. Joosten M., Flahou B., Meyns T., Smet A., Arts J., Cooman L., Pasmans F., Ducatelle R., Haesebrouck F.: Case report: *Helicobacter suis* infection in a pig veterinarian. *Helicobacter*. 18(5): 392-396, 2013.
200. Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N.: The lower alimentary system. In: *Pathology of domestic animals*, 3rd edn, vol.2. London, Academic Press. 42-49, 1988.
201. Jung S.W., Sugimoto M., Shiota S., Graham D.Y., Yamaoka Y.: The intact dupA cluster is a more reliable *Helicobacter pylori* virulence marker than dupA alone. *Infection and immunity*. 80(1): 381-387, 2012.
202. Junqueira L., Carneiro J.: *Basic histology*. 11 ed. New York, Mc Graw-Hill Company, 281-297. 2005.
203. Kabisch R., Mejías-Luque R., Gerhard M., Prinz C.: Involvement of Toll-like receptors on *Helicobacter pylori*-induced immunity. *PloS ONE*. 9(8): 104804, 2014.
204. Kang J., Jones K.R., Jang S., Olsen C.H., Yoo Y.J., Merrell D.S., Cha J.H.: The geographic origin of *Helicobacter pylori* influences the association of the homB gene with gastric cancer. *Journal of clinical microbiology*. 50(3): 1082-1085, 2012.
205. Kaur G., Madhavan M., Basri A.H., Sain A.H., Hussain M.S., Yatiban M.K., Naing N.N.: Rapid diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in gastric imprint smears. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health*. 35(3): 676-680, 2004.
206. Kavermann H., Burns B.P., Angermüller K., Odenbreit S., Fischer W., Melchers K., Haas R.: Identification and characterization of *Helicobacter pylori* genes essential for gastric colonization. *Journal of Experimental Medicine*. 197(7): 813-822, 2003.
207. Kawai T., Akira S.: Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*. 34(5): 637-650, 2011.
208. Kawakubo M., Ito Y., Okimura Y., Kobayashi M., Sakura K., Kasama S., Fukuda M.N., Fukuda M., Katsuyama T., Nakayama J.: Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. *Science*. 305(5686):1003-1006, 2004.
209. Keneth J.H.: *Djuksova fiziologija domaćih životinja* (prevod). Sarajevo. 379-380, 1975.
210. Kennemann L., Brenneke B., Andres S., Engstrand L., Meyer T.F., Aebischer T., Josenhans C., Suerbaum S.: In vivo sequence variation in HopZ, a phase-variable outer membrane protein of *Helicobacter pylori*. *Infection and immunity*. 80(12): 4364-4373, 2012.

211. Khedmat H., Karami A., Safiri Z., Amini M., Bakhtiari A., Karbasi A., Jayhounian M., Jalalian H., Taheri S.: *Helicobacter pylori* genotypes can predict gastric tissue histopathology: a longitudinal study of Iranian patients. *Journal of infection and public health*. 5(2): 153-158, 2012.
212. Kilbridge P.M., Dahms B.B., Czinn S.J.: *Campylobacter pylori*-associated gastritis and peptic ulcer disease in children. *American Journal of Diseases of Children*. 142(11): 1149-1152, 1988.
213. Kim Y.G., Park J.H., Shaw M.H., Franchi L., Inohara N., Núñez G.: The cytosolic sensors Nod1 and Nod2 are critical for bacterial recognition and host defense after exposure to Toll-like receptor ligands. *Immunity*. 28(2): 246-257, 2008.
214. Knežević Štromar I., Jakić-Razumović J., Knežević-Obad A.: Imprint cytology of gastric mucosa biopsy-fast, simple and reliable method for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Coll. Antropol.* 32(1): 171-175, 2008.
215. Knežević Milijana, Jovanović M., Božić Tatjana.: *Regulatorno reaktivne promene u lamini epithelialis creva kod bakterijskih i virusnih enteritisa*, Zbornik plenarnih referata i kratkih sadržaja radova Simpozijuma „Male životinje – život i zdravlje”. Beograd. 1996.
216. Koga T., Shimada Y., Sato K., Takahashi K., Kikuchi Miura T., Takenouchi T., Narita T., Iwata M.: Experimental *Helicobacter pylori* gastric infection in miniature pigs. *J. Med. Microbiol.* 51(3): 238-246, 2002.
217. Kopta L.A., Paquette J.A., Bowersock T.L., Choromanski L.J., Godbee T.K., Galvin J.E., Foss D.L.: Information of *Helicobacter suis* in pig-producing regions of North America. *Conference of Research Workers in Animal Diseases*. Chicago. Illinois. Dec 5–7, 2010.
218. Körber-Golze V.B., Scupin E.: *Helicobacter pylori*: untersuchungen beim hausschwein. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 100: 465-468, 1993.
219. Krakowka S., Morgan D.R., Eaton K.A., Radin M.J.: Animal models of *Helicobacter pylori* gastritis. In: *Helicobacter pylori*, ed. Menge H, Gregor M, Tytgat GNJ, Marshal BJ, and McNulty CAM, 1990, pp. 76–80, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
220. Krakowka S.T., Morgan D.R., Kraft W.G., Leunk R.D.: Establishment of gastric *Campylobacter pylori* infection in the neonatal gnotobiotic piglet. *Infection and immunity*. 55(11): 2789-2796, 1987.

221. Krakowka S., Ringler S.S., Flores J., Kearns R.J., Eaton K.A., Ellis J.A.: Isolation and preliminary characterization of a novel *Helicobacter* species from swine. *American journal of veterinary research*. 66(6): 938-944, 2005.
222. Krakowka S., Rings D.M., Ellis J.A.: Experimental induction of bacterial gastritis and gastric ulcer disease in gnotobiotic swine inoculated with porcine *Helicobacter*-like species. *American journal of veterinary research*. 66(6): 945-952, 2005a.
223. Krakowka S., Eaton K.A., Rings D.M., Argenzio R.A.: Production of gastroesophageal erosions and ulcers (GEU) in gnotobiotic swine monoinfected with fermentative commensal bacteria and fed high-carbohydrate diet. *Veterinary pathology*. 35(4): 274-282, 1998.
224. Krakowka S., Eaton K.A., Rings D.M.: Occurrence of gastric ulcers in gnotobiotic piglets colonized by *Helicobacter pylori*. *Infection and immunity*. 63(6): 2352-2355, 1995.
225. Kuipers E.J., Klinkenberg-Knol E.C., Vandenbroucke-Grauls C.M., Appelmek B.J., Schenk B.E., Meuwissen S.G.: Role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of atrophic gastritis. *Scand. J. Gastroenterol*. 223: 28-34, 1996.
226. Kuipers E.J., Pérez-Pérez G.I., Meuwissen S.G., Blaser M.J.: *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the *cagA* status. *Journal of the National Cancer Institute*. 87(23): 1777-1780, 1995.
227. Kusters J.G., van Vliet A.H., Kuipers E.J.: Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical microbiology reviews*. 19(3): 449-490, 2006.
228. Kvetnoy I.M., Yuzhakov V.V., Raikhlin N.T.: APUD cells: Modern strategy of morpho-functional analysis. *Microscopy and analysis*. 48: 25-27, 1997.
229. Kwok T., Zabler D., Urman S., Rohde M., Hartig R., Wessler S., Misselwitz R., Berger J., Sewald N., König W., Backert S.: *Helicobacter* exploits integrin for type IV secretion and kinase activation. *Nature*. 449: 862–866, 2007.
230. Laine L., Weinstein W.M.: Subepithelial hemorrhages and erosions of human stomach. *Dig. Dis. Sci*. 33: 490-503, 1988a.
231. Lambert J.R., Borromeo M., Pinkard K.J., Turner H., Chapman C.B., Smith M.L.: Colonization of gnotobiotic piglets with *Campylobacter pyloridis*—an animal model? *J. Infect. Dis*. 155(6): 1314, 1987.
232. Langner M., Machado R., Patricio F.R., Kawakami E.: Evaluation of gastric histology in children and adolescent with *Helicobacter pylori* gastritis using the Update Sydney System.

- Arq. Gastroenterol. 46(4): 328-332, 2009.
233. Lee J.U., Jung K., Kim O.: Absence of vertical transmission of *Helicobacter pylori* in an experimental murine model. *J. Vet. Sci.* 7: 225-228, 2006.
234. Lee A., O' Rourke J.: Gastric bacteria other than *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America*. 22(1): 21-42, 1993.
235. Lee S.K., Stack A., Katzowitsch E., Aizawa S.I., Suerbaum S., Josenhans C.: *Helicobacter pylori* flagellins have very low intrinsic activity to stimulate human gastric epithelial cells via TLR5. *Microbes and infection*. 5: 1345–1356, 2003.
236. Lenahan C., Avigan D.: Dendritic cell defects in patients with cancer: mechanisms and significance. *Breast Cancer Research*. 8: 101, 2006.
237. Leung W.K., Kim J.J., Kim J.G.: Microsatellite instability in gastric intestinal metaplasia in patients with and without gastric cancer. *Am. J. Pathol.* 156(2): 537–543, 2000.
238. Leunk R.D., Johnson P.T., David B.C., Kraft W.G., Morgan D.R.: Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J. Med. Microbiol.* 26: 93–99, 1988.
239. Li H., Andersson E.M., Helander H.F.: Reactions from rat gastric mucosa during one year of *Helicobacter pylori* infection. *Dig. Dis. Sci.* 44: 116–124, 1999.
240. Lim K.C., Tan H.K., Rajnakova A., Venkatesh S.K.: Eosinophilic gastroenteritis presenting with duodenal obstruction and ascites. *Annals of the Academy of Medicine Singapore*. 40(8): 379-381, 2011.
241. Linden S., Mahdavi J., Semino-Mora C., Olsen C., Carlstedt I., Boren T., Dubois A.: Role of ABO secretor status in mucosal innate immunity and *H. pylori* infection. *PLoS Pathogens*. 4(1): 2, 2008.
242. Linden S.: *Helicobacter pylori* binding to gastric mucins and host glycosylation changes after inoculation. Doctoral Thesis. Lund University. 2004.
243. Linden S., Nordman H., Hedenbro J., Hurtig M., Borén T., Carlstedt I.: Strain- and blood group-dependent binding of *Helicobacter pylori* to human gastric MUC5AC glycoforms. *Gastroenterology*. 123: 1923–1930, 2002.
244. Lindholm C., Quiding-Järbrink M., Lonroth H., Hamlet A., Svennerholm A.M.: Local cytokine response in *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Infect. Immun.* 66: 5964-5971, 1998.

245. Lingwood C.A., Law H., Pallizzari P., Drumm B.: Gastric glycerolipid as a receptor for *Campylobacter pylori*. *Lancet*. 2(9657): 238-241, 1989.
246. Loh J.T., Torres V.J., Algood H.M., McClain M.S., Cover T.L.: *Helicobacter pylori* HopQ outer membrane protein attenuates bacterial adherence to gastric epithelial cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 289: 53–58, 2008.
247. Lower M., Weydig C., Metzler D., Reuter A., Starzinski-Powitz A., Wessler S., Schneider G.: Prediction of extracellular proteases of the human pathogen *Helicobacter pylori* reveals proteolytic activity of the Hp1018/ 19 protein HtrA. *PLoS One*. 3: 3510, 2008.
248. Lu H., Wu J.Y., Beswick E.J., Ohno T., Odenbreit S., Haas R., Reyes V.E., Kita M., Graham D.Y., Yamaoka Y.: Functional and intracellular signaling differences associated with the *Helicobacter pylori* AlpAB adhesin from Western and East Asian strains. *J. Biol. Chem.* 282: 6242–6254, 2007.
249. Luzzza F., Mancuso M., Imeneo M., Contaldo A., Giancotti L., Pensabene L., Doldo P., Liberto M.C., Strisciuglio P., Focà A., Guandalini S., Pallone F.: Evidence favouring the gastro-oral route in the transmission of *Helicobacter pylori* infection in children. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 12: 623-627, 2000.
250. Lytton S.D., Fischer W., Nagel W., Haas R., Beck F.X.: Production of ammonium by *Helicobacter pylori* mediates occludin processing and disruption of tight junctions in Caco-2 cells. *Microbiology*. 151: 3267–3276, 2005.
251. Maciorkowska E., Kaczmarek M., Kemona A., Kondej-Muszynska K., Gocal M.: Comparative evaluation of gastric mucosa morphological changes in children and adults with positive IgG antibodies to *Helicobacter pylori*. *Annales Academiae Medicae Bialostocensis*. 48: 100-103, 2003.
252. Mahanta S., Chaudhury B.: Prevalence, pathology and isolation studies on phycomycotic gastric ulcer in neonatal piglets. *Sabouraudia*. 23(5): 395-397, 1985.
253. Mahdavi J., Boren T., Vandenbroucke Grauls C., Appelmelk B.J.: Limited role of lipopolysaccharide lewis antigens in adherence of *Helicobacter pylori* to the human gastric epithelium. *Infect. Immun.* 71: 2876–2880, 2003.
254. Mahdavi J., Sonden B., Hurtig M., Olfat F.O., Forsberg L., Roche N., Angstrom J., Larsson T., Teneberg S., Karlsson K.A., Altraja S., Wadstrom T., Kersulyte D., Berg D.E., Dubois A., Petersson C., Magnusson K.E., Norberg T., Lindh F., Lundskog B.B., Arnqvist

- A., Hammarstrom L., Boren T.: *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science*. 297: 573–578, 2002.
255. Malaty H.M., Evans D.G., Evans D.J., Graham D.Y.: *Helicobacter pylori* in Hispanics: comparison with blacks and whites of similar age and socioeconomic class. *Gastroenterology*. 103(3): 813-816, 1992.
256. Malaty H.M., Graham D.Y.: Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. 35(6): 742-745, 1994.
257. Mall A.S., Suleman N., Taylor K., Kidd M., Tyler M., Lotz Z., Hickman R., Kahn D.: The relationship of a *Helicobacter heilmannii* infection to the mucosal changes in abattoir and laboratory pig. *Stomach Surg. Today*. 34: 943–949, 2004.
258. Marionneau S., Cailleau-Thomas A., Rocher J., Le Moullac-Vaidye B., Ruvoen N., Clement M., Le Pendu J.: ABH and Lewis histo-blood group antigens, a model for the meaning of oligosaccharide diversity in the face of a changing world. *Biochimie*. 83: 565–573, 2001.
259. Markovska R., Boyanova L., Yordanov D., Gergova G., Mitov I.: *Helicobacter pylori* oipA genetic diversity and its associations with both disease and cagA, vacA s,m, and i alleles among Bulgarian patients. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 71: 335–340, 2011.
260. Marshall B.J., McGeachie D.B., Rogers P.A., Glancy R.J.: Pyloric campylobacter infection and gastroduodenal disease. *Med. J. Aust*. 142: 439-444, 1985.
261. Marshall B.J.: *Campylobacter pyloridis* and gastritis. *J. Infect. Dis*. 153: 650-657, 1986.
262. Marshall B.J., Warren J.R.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1331-1315, 1984.
263. Marshall B.J.: *Helicobacter pylori*. *Am. J. Gastroenterol*. 89(8): 116-128, 1994.
264. Martinez J.J., Mulvey M.A., Schilling J.D., Pinkner S.J., Hultgren J.S.: Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. *EMBO Journal*. 19: 2803–2812, 2000.
265. Mason F., Pascotto E., Zanfi C., Spanghero M.: Effect of dietary inclusion of whole ear corn silage on stomach development and gastric mucosa integrity of heavy pigs at slaughter. *The Veterinary Journal*. 198(3): 717–719, 2013.
266. Mattsson A., Quiding-Jabrink M., Lonroth H., Hamlet A., Ahlstedt I., Svennerholm A.: Antibody secreting cells in the stomach of symptomatic and asymptomatic *H. pylori* infected subjects. *Infect. Immun*. 66(6): 2705-2712, 1998.

267. Maxwell C.V., Reimann E.M., Hoekstra W.G., Kowalczyk T., Benevenga N.J., Grummer R.H.: Effect of dietary particle size on lesion development and on the contents of various regions of the swine stomach. *Journal of Animal Science*. 30: 911–922, 1970.
268. Mazzoni M., Bosi P., De Sordi N., Lalatta-Costerbosa G.: Distribution, organization and innervation of gastric MALT in conventional piglet. *J. Anat.* 219(5): 611–621, 2011.
269. McGuckin M.A., Linden S.K., Sutton P., Florin T.H.: Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 9(4): 265–278, 2011.
270. Mégraud F., Broutet N.; Review article: have we found the source of *Helicobacter pylori*? *Aliment. Pharmacol. Ther.* 14(3): 7–12, 2000.
271. Meining A., Krobert G., Stolte M.: Animal reservoirs in the transmission of *Helicobacter heilmannii*. Results of a questionnaire-based study. *Scand. J. Gastroenterol.* 33: 795–798, 1998.
272. Melnichouk S.L., Friendship M.R., Dewey C.E., Bildfell R.J., Smart N.L.: *Helicobacter*-like organisms in the stomach of pigs with and without gastric ulceration. *Swine Health Prod.* 7: 201–205, 1999.
273. Mendes E.N., Queiroz D.M., Rocha G.A., Moura S.B., Leite V.H., Fonseca M.E.: Ultrastructure of a spiral micro-organism from pig gastric mucosa (“*Gastrospirillum suis*”). *Journal of medical microbiology*. 33(1): 61–66, 1990.
274. Mendes E.N., Queiroz D.M., Dewhirst F.E., Paster B.J., Moura S.B., Fox J.G.: *Helicobacter troglodytes* sp. nov. isolated from the rat intestine. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46: 916–921, 1996.
275. Mendes E.N., Queiroz D.M., Dewhirst F.E., Paster B.J., Rocha G.A., Fox J.B.: Are pigs a reservoir host for human *Helicobacter* infection? *Am. J. Gastroenterol.* 89: 1296, 1994.
276. Mendes E.N., Queiroz D.M., Rocha G.A., Nogueira A.M., Carvalho A.C., Lage A.P., Barbosa A.J.: Histopathological study of porcine gastric mucosa with and without a spiral bacterium (“*Gastrospirillum suis*”). *J. Med. Microbiol.* 35: 345–348, 1991.
277. Meyer F., Ramanujam K.S., Gobert A.P., James S.P., Wilson K.T.: Cutting edge: cyclooxygenase-2 activation suppresses Th1 polarization in response to *Helicobacter pylori*. *J. Immunol.* 171: 3913–3917, 2003.
278. Miehle S., Hackelsberger A., Meining A., Hatz R., Lehn N., Malfertheiner P., Stolte M., Bayerdorffer E.: Severe expression of corpus gastritis is characteristic in gastric cancer

- patients infected with *Helicobacter pylori*. *Br. J. Cancer*. 78: 263- 266, 1998.
279. Millet S., Kumar S., De Boever J., Meyns T., Aluwé M., De Brabander D., Ducatelle R.: Effect of particle size distribution and dietary crude fibre content on growth performance and gastric mucosa integrity of growing–finishing pigs. *The Veterinary Journal*. 192: 316–321, 2012a.
280. Millet S., Kumarb S., De Boevera J., Ducatelle R., De Brabander D.: Effect of feed processing on growth performance and gastric mucosa integrity in pigs from weaning until slaughter. *Animal Feed Science and Technology*. 175: 175– 181, 2012b.
281. Millet S., Meyns T., Aluwé M., De Brabander D., Ducatelle R.: Effect of grinding intensity and crude fibre content of the feed on growth performance and gastric mucosa integrity of growing–finishing pigs. *Livestock Science*. 134: 152–154, 2010.
282. Misra S.P., Misra V., Dwivedi M., Singh P.A., Gupta S.C.: Diagnosing *Helicobacter pylori* by imprint cytology: can the same biopsy specimen be used for histology? *Diagn. Cytopathol*. 18: 330–332, 1998.
283. Misra V., Misra S.P., Dwivedi M., Gupta S.C.: The Loeffler’s Methylene blue stain: An inexpensive and Rapid Method for detection of *Helicobacter Pylori*. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 9: 512-513, 1994.
284. Mitchell H., Bohane T., Tovias V., Daskalopoulos B., Lee A.: *Helicobacter pylori* in children-not simply a mirror image of the adult disease. *Microbiol. Ecol. Health. Dis.* 4: 111, 1991.
285. Mitchell H.M., Li Y.Y., Hu P.J., Liu Q., Chen M., Du G.G., Wang Z.J., Lee A., Hazell S.L.: Epidemiology of *Helicobacter pylori* in southern China: identification of early childhood as the critical period for acquisition. *J. Infect. Dis.* 166(1): 149-153, 1992.
286. Mogoantaa L., Streba C.Z., Pirici D., Dirnu R., Oprea B.: Pancreatic metaplasia of gastric mucosa associated with gastroduodenal ulcer. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 51(2): 365-69. 2010.
287. Montecucco C., Rappuoli R.: Living dangerously: how *H. pylori* survives in the human stomach. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2: 457–466, 2001.
288. Monteiro M.A., Appelmelk B.J., Rasko D.A., Moran A.P., Hynes S.O., MacLean L.L., Chan K.H., Michael F.S., Logan S.M., O’Rourke J.: Lipopolysaccharide structures of *Helicobacter pylori* genomic strains 26695 and J99, mouse model H-*pylori* Sydney strain, H-

- pylori P466 carrying sialyl Lewis X, and H-pylori UA915 expressing Lewis B—
Classification of H-pylori lipopolysaccharides into glycotype families. *Eur. J. Biochem.* 267:
305–320, 2000.
289. Moore M., Boren T., Solnick J.: Life at the margins: Modulation of attachment proteins
in *Helicobacter pylori*. *Gut Microbes.* 2: 42–46, 2011.
290. Moser M., Murphy K.M.: Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development. *Nat.*
Immunol. 1: 199–205, 2000.
291. Mulvey M.A., Lopez-Boado Y.S., Wilson C.L., Roth R., Parks W.C., Heuser J., Hultgren
S.J.: Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia*
coli. *Science.* 282: 1494–1497, 1998.
292. Muotiala A., Helander I.M., Pyhala L., Kosunen T.U., Moran A.P.: Low biological
activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infect. Immun.* 60: 1714–1716, 1992.
293. Murata-Kamiya N., Kurashima Y., Teishikata Y., Yamahashi Y., Saito Y., Higashi H.,
Aburatani H., Akiyama T., Peek R.M., Azuma T., Hatakeyama M.: *Helicobacter pylori* CagA
interacts with E-cadherin and deregulates the β -catenin signal that promotes intestinal
transdifferentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene.* 26(32): 4617–4626, 2007.
294. Nagata K., Yu H., Nishikawa M., Kashiba M., Nakamura A., Sato E.F., Tamura T., Inoue
M.: *Helicobacter pylori* generates superoxide radicals and modulates nitric oxide metabolism.
J. Biol. Chem. 273: 14071–14073, 1998.
295. Namavar F., Sparrius M., Veerman E.C., Appelmelk B.J., Vandenbroucke-Grauls C.M.:
Neutrophil-activating protein mediates adhesion of *Helicobacter pylori* to sulfated
carbohydrates on high-molecular-weight salivary mucin. *Infect. Immun.* 66: 444–447, 1998.
296. Nambiar P.R., Kirchain S., Fox J.G.: Gastritis-associated adenocarcinoma and intestinal
metaplasia in a Syrian hamster naturally infected with *Helicobacter* species. *Vet. Pathol.* 42:
386–390, 2005.
297. Navabi N., Johansson M.E., Raghavan S., Linden S.K.: *Helicobacter pylori* infection
impairs the mucin production rate and turnover in the murine gastric mucosa. *Infect. Immun.*
81(3): 829–837, 2013.
298. Necchi V., Candusso M.E., Tava F., Luinetti O., Ventura U., Fiocca R., Picci V., Solcia
E.: Intracellular, intercellular, and stromal invasion of gastric mucosa, preneoplastic lesions,
and cancer by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.* 132: 1009–1023, 2007.

299. Nessa J., Chart H., Owen R.J., Drasar B.: Human serum antibody response to *Helicobacter pylori* whole cell antigen in an institutionalized Bangladeshi population. *Journal of applied microbiology*. 90: 68-72, 2001.
300. Newton J.L., Jordan N., Oliver L., Strugala V., Pearson J., James O.F.W.: *Helicobacter pylori* in vivo causes structural changes in the adherent gastric mucus layer but barrier thickness is not compromised. *Gut*. 43(4): 470–475, 1998.
301. Nguyen V.Q., Caprioli R.M., Cover T.L.: Carboxy-terminal proteolytic processing of *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. *Infect. Immun.* 69: 543–546, 2001.
302. Nilius M., Malfertheiner P.: *Helicobacter pylori* enzymes. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 10(1): 65-71, 1996.
303. Nilius M., Strohle A., Bode G., Malfertheiner P.: Coccoid like forms (clf) of *Helicobacter pylori*. Enzyme activity and antigenicity. *Int. J. Med. Microbiol.* 280: 259–272, 1993.
304. Noach L.A., Bosma N.B., Jansen J., Hoek F.J., van Deventer S.J., Tytgat G.N.: Mucosal tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Scand. J. Gastroenterol.* 29: 425–429, 1994.
305. Nogueira C., Figueiredo C., Carneiro F., Gomes A.T., Barreira R., Figueira P., Salgado C., Belo L., Peixoto A., Bravo J.C., Bravo L.E., Plaisier A.P., Quint W.G., Ruiz B., Correa P., van Dorn L.J.: *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. *Am. J. Pathol.* 158: 647–654, 2001.
306. Nomura M.A., Lee J., Stemmermann G.N., Nomura R.Y., Perez-Perez G.I., Blaser M.J.: *Helicobacter pylori* CagA seropositivity and gastric carcinoma risk in a Japanese American population. *J. Infect. Dis.* 186: 1138–44, 2002.
307. Nomura M.A., Stemmermann G.N., Chyou P.H., Kato I., Perez-Perez G.I., Blaser M.J.: *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl. J. Med.* 325(16): 1132-1136, 1991.
308. Norris C.R., Marks S.L., Eaton K.A., Torabian Z.K., Munn R.J., Solnick J.V.: Healthy cats are commonly colonized with *Helicobacter heilmannii* that is associated with minimal gastritis. *J. Clin. Microbiol.* 37: 189–194, 1999.
309. Nowak J.A., Forouzandeh B., Nowak J.A.: Estimates of *Helicobacter pylori* densities in the gastric mucus layer by PCR, histologic examination, and CLO test. *Am. J. Clin. Pathol.* 108: 284–288, 1997.

310. O'Garra A., Vieira P.: Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat. Med.* 10: 801-805, 2004.
311. O'Keeffe J., Moran A.P.: Conventional, regulatory, and unconventional T cells in the immunologic response to *Helicobacter pylori*, *Helicobacter*. 13: 1–19, 2008.
312. Odenbreit S., Faller G., Haas R.: Role of the AlpAB proteins and lipopolysaccharide in adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric tissue. *Int. Med. Microbiol.* 292: 247–256, 2002.
313. Odenbreit S., Puls J., Sedlmaier B., Gerland E., Fischer W., Haas R.: Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science*. 287: 1497–500, 2000.
314. Odenbreit S., Swoboda K., Barwig I., Ruhl S., Boren T., Koletzko S., Haas R.: Outer membrane protein expression profile in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Infect. Immun.* 77: 3782–3790, 2009.
315. Odenbreit S., Till M., Hofreuter D., Haas R.: Outer membrane proteins AlpA and AlpB are involved in *H. pylori* binding to epithelial cells. *Gut*. 41: A107, 1997.
316. Oertli M., Noben M., Engler D.B., Semper R.P., Reuter S., Maxeiner C., Gerhard M., Taube C., Muller A.: *Helicobacter pylori* α -glutamyl transpeptidase and vacuolating cytotoxin promote gastric persistence and immune tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 110(8): 3047–3052, 2013.
317. Ohno T., Vallstrom A., Rugge M., Hirozoshi O., Graham D., Arnqvist A., Yamaoka Y.: Effects of blood group antigen-binding adhesin expression during *Helicobacter pylori* infection of Mongolian gerbils. *Journal of Infectious Diseases*. 203(5): 726–735, 2011.
318. Oleastro M., Cordeiro R., Ferrand J., Nunes B., Lehours P., Carvalho-Oliveira I., Mendes A.L., Monteiro L., Megraud F., Menard A.: Evaluation of the clinical significance of homB, a novel candidate marker of *Helicobacter pylori* strains associated with peptic ulcer disease. *J. Infect. Dis.* 198: 1379–1387, 2008.
319. Osaki T., Yamaguchi H., Taguchi H., Fukuda M., Kawakami H., Hirano H., Watanabe S., Takagi A., Kamiya S.: Establishment and characterisation of a monoclonal antibody to inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to gastric epithelial cells. *J. Med. Microbiol.* 47: 505–512, 1998.
320. Osato M.S., Ayub K., Le H.H., Reddy R., Graham D.Y.: Houseflies are an unlikely

- reservoir or vector for *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Microbiology*. 36(9): 2786–2788, 1998.
321. Ottemann K.M., Lowenthal A.C.: *Helicobacter pylori* uses motility for initial colonization and to attain robust infection. *Infect. Immun.* 70(4): 1984–1990, 2002.
322. Ozoran Y., Albayrak L., Turgutalp H., Bakir T.: Atrophic gastritis, intestinal metaplasia, gastric carcinoma and its variants in dyspeptic cases of eastern black sea region. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. 5(2): 118-122, 1992.
323. Palframan S.L., Kwok T., Gabriel K.: Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2(92): 1-9, 2012.
324. Papini E., Satin B., Norais N., de Bernard M., Telford J.L., Rappuoli R., Montecucco C.: Selective increase of the permeability of polarized epithelial cell monolayers by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. *J. Clin. Invest.* 102: 813–820, 1998.
325. Park H.K., Kim N., Lee S.W., Park J.J., Kim J.I., Lee S.Y., Cha H.M., Kim H., Park S.H., Shim K.N., Kim S.E., Hong S.J., Chung I.K., Baik G.H., Kim H.S., Kim S., Seong J.K., Seo G.S., Jee S.R., Moon J.S., Kim J.W., Chung M.G., Park S.M., Nah B.K., Nam S.Y., Seo K.S., Ko B.S., Jo Y.J., Jang J.Y., Kim B.G., Kim J.W., Park K.S., Park H.S., Kim Y.S., Lim S.H., Kim C.H., Park M.J., Yim J.Y., Cho K.R., Kim D., Park S.J., Song G.A., Kim H.J., Kim S.W., Im E.H., Lee K.S., Hyun D.H., Kim H.Y., Kim S.M., Shin J.E., Park C.G., Yang C.H., Park S.H., Jung H.C., Chung I.S.: The Distribution of Endoscopic Gastritis in 25,536 Heath Check-up Subjects in Korea. *Korean J. Helicobacter. Up. Gastrointest. Res.* 12: 237-243, 2012.
326. Park H., Li Z.X., Yang X.O., Chang S.H., Nurieva R., Wang Y.H., Wang Y., Hood L., Zhu Z., Tian Q., Dong C.: A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat. Immunol.* 6: 1133–1141, 2005.
327. Park J.H., Lee B.J., Lee Y.S., Park J.H.: Association of tightly spiraled bacterial infection and gastritis in pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 62: 725–729, 2000.
328. Parsonnet J.: The incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 9(2): 45–51, 1995.
329. Parsonnet J., Hansen S., Rodriguez L., Gelb A.B., Warnke R.A., Jellum E., Orentreich N., Vogelmann J.H., Friedman G.D.: *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 330: 1267–1271, 1994.

330. Pasare C., Medzhitov R.: Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature*. 438: 364–368, 2005.
331. Pascotto E., Capraro D., Tomè P., Spanghero M.: Topographic distribution of gastritis in heavy pigs investigated by a geographic information system approach. *Geospat. Health*. 11: 221–223, 2016.
332. Patterson M.M., Schrenzel M.D., Feng Y., Fox J.G.: Gastritis and intestinal metaplasia in syrian hamsters infected with *Helicobacter aurati* and two other microaerobes. *Vet. Pathol*. 37: 589-596, 2000.
333. Paull G., Yardly J.H.: Pathology of *C. pylori*-associated gastric and esophageal lesions. In: Blaser MJ, ed. *Campylobacter pylori in gastric and peptic ulcer disease*. New York: Igaku-Shoin, 73-97. 1989.
334. Peck B., Ortkamp M., Diehl K.D., Hundt E., Knapp B.: Conservation, localization and expression of HopZ, a protein involved in adhesion of *Helicobacter pylori*. *Nucl. Acids Res*. 27: 3325–3333, 1999.
335. Perez-Perez G.I., Shepherd V.L., Morrow J.D., Blaser M.J.: Activation of human THP-1 cells and rat bone marrow-derived macrophages by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infect. Immun*. 63: 1183-1187, 1995.
336. Petersson C., Forsberg M., Aspholm M., Olfat F.O., Forslund T., Boren T., Magnusson K.E.: *Helicobacter pylori* SabA adhesin evokes a strong inflammatory response in human neutrophils which is down-regulated by the neutrophil-activating protein. *Med. Microbiol. Immunol*. 195: 195–206, 2006.
337. Petrosjan F.R.: Materiali VI Vsesojutnoj konferencii po patologičeskoj anatomii životnih (zb. radova), Talin. 223-225, 1975.
338. Peyrol S., Lecoindre P., Berger I.: Differential pathogenic effect of two *Helicobacter*-like organisms in dog's gastric mucosa. *J. Submicroscop. Cytol. Pathol*. 30: 425-433, 1998.
339. Pinchuk I.V., Morris K.T., Nofchissey R.A., Earley R.B., Wu J.Y., Ma T.Y., Beswick E.J.: Stromal cells induce Th17 during *Helicobacter pylori* infection and in the gastric tumor microenvironment. *PLoS ONE*. 8(1): 53798, 2013.
340. Phillips N.D., Accioly J.M., Robertson I.D., Hampson D.J.: PCR-based identification of spiral bacteria in healthy and ulcerated swine stomach. 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne. 49, 2000.

341. Pirarat N., Sada V., Wangnaitham S., Sunyasootcharee B.: Pathological study of *Helicobacter* spp. infection in pig stomachs. *Thai. J. Vet. Med.* 37(1): 41-48, 2007.
342. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Van Huffel C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi Castagnoli P., Layton B., Beutler B.: Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science*. 282: 2085–2088, 1998.
343. Potkins Z., Lawrence T.L.J., Thomlinson J.R.: Oesophagogastric parakeratosis in the growing pig: some effects of finely ground barley diets, genotype and previous husbandry. *Res. Vet. Sci.* 47: 68-74, 1989.
344. Poutahidis T., Tsangaris T., Kanakoudis G., Vlemmas I., Iliadis N., Sofianou D.: *Helicobacter pylori*-induced gastritis in experimentally infected conventional piglets. *Vet. Pathol.* 38: 667-678, 2001.
345. Price A.B., Misiewicz J.J.: Sydney classification for gastritis. *Lancet*. 337: 174, 1991.
346. Price A.B.: The Sydney System: Histological division. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 6: 209-22, 1991.
347. Pride D.T., Blaser M.J.: Concerted evolution between duplicated genetic elements in *Helicobacter pylori*. *J. Mol. Biol.* 316: 629–642, 2002.
348. Pride D.T., Meinersmann R.J., Blaser M.J.: Allelic variation within *Helicobacter pylori* *babA* and *babB*. *Infect. Immun.* 69: 1160–1171, 2001.
349. Prinz C., Schoniger M., Rad R., Becker I., Keiditsch E., Wagenpfeil S., Classen M., Rosch T., Schepp W., Gerhard M.: Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during chronic gastric inflammation. *Cancer Research*. 61(5): 1903–1909, 2001.
350. Queiroz D.M., Rocha G.A., Mendes E.N., Lage A.P., Carvalho A.C., Barbosa A.J.: A spiral microorganism in the stomach of pigs. *Vet. Microbiol.* 24: 199–204, 1990.
351. Queiroz D.M., Rocha G.A., Mendes E.N., Moura S.B., Oliveira M.R., Miranda D.: Association between *Helicobacter* and gastric ulcer disease of the pars oesophagea in swine. *Gastroenterology*. 111: 19–27, 1996.
352. Rad R., Ballhorn W., Voland P., Eisenacher K., Mages J., Rad L., Ferstl R., Lang R., Wagner H., Schmid R.M., Bauer S., Prinz C., Kirschning C.J., Krug A.: Extracellular and intracellular pattern recognition receptors cooperate in the recognition of *Helicobacter pylori*.

- Gastroenterology. 136: 2247–2257, 2009.
353. Rad R., Gerhard M., Lang R., Schoniger M., Rosch T., Schepp W., Becker I., Wagner H., Prinz C.: The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *Journal of Immunology*. 168(6): 3033–3041, 2002.
354. Radin M.J., Eaton K.A., Krakowka S., Morgan D.R., Lee A., Otto G., Fox J.: *Helicobacter pylori* gastric infection. In: Ramis G, Gómez S, Pallarés FJ, Lucas X, Gracia E, Munoz A. Prevalence of like-*Helicobacter* bacteria at slaughter in Spain, assessed by carbolfuchsin stain. 17th International Pig Veterinary Society Congress. Ames. 193, 2002.
355. Radin M.J., Eaton K.A., Krakowka S., Morgan D.R., Lee A., Otto G., Fox J.: *Helicobacter pylori* gastric infection in gnotobiotic Beagle dogs. *Infect. Immun.* 58: 2606–2612, 1990.
356. Rappin J.: Contribution a l'etude de bacteries de la bouche a l'etat normal. PhD thesis. College de France, Nates, France. 1881.
357. Rassow J.: *Helicobacter pylori* vacuolating toxin A and apoptosis. *Cell Commun. Signal.* 9: 26, 2011.
358. Rathbone B.J., Wyatt J.I., Worsley B.W., Shires S.E., Trejdosiewicz L.K., Heatley R.V., Losowsky M.S.: Systemic and local antibody responses to gastric *Campylobacter pyloridis* in non-ulcer dyspepsia. *Gut*. 27(6): 642–647, 1986.
359. Rauws E.A.J., Langenberg W., Houthoff H.J., Hendrik J., Houthoff H., Zanen C., Guido N., Tytgat J.: *Campylobacter pyloridis* associated chronic active antral gastritis. *Gastroenterology*. 94: 33–40, 1988.
360. Rescigno M., Urbano M., Valzasina B., Francolini M., Rotta G., Bonasio R.: Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat. Immunol.* 2: 361–367, 2001.
361. Reytrat J.M., Rappuoli R., Telford J.L.: A structural overview of the *Helicobacter* cytotoxin. *Int. J. Med. Microbiol.* 290: 375–379, 2000.
362. Rietschel E.T., Brade H., Holst O., Brade L., Muller-Loennies S., Mamat U., Zahringer U., Beckmann F., Seydel U., Brandenburg K., Ulmer A.J., Mattern T., Heine H., Schletter J., Loppnow H., Schonbeck U., Flad H.D., Hauschildt S., Schade U.F., Di Padova F., Kusumoto S., Schumann R.R.: Bacterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host

- response, and immunological detoxification. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 216: 39-81, 1996.
363. Rimbara E., Mori S., Kim H., Shibayama K.: Role of gamma-glutamyl transpeptidase in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Microbiology and immunology.* 57(10): 665–673, 2013.
364. Rocha G.A., Queiroz D.M., Mendes E.N., Barbosa A.J., Lima Junior G.F., Oliveira C.A.: *Helicobacter pylori* acute gastritis: histological, endoscopic, clinical, and therapeutic features. *Am. J. Gastroenterol.* 86: 1592-1595, 1991.
365. Roosendaal R., Vos J.H., Roumen T., van Vugt R., Cattoli G., Bart A., Klaasen H.L., Kuipers E.J., Vandenbroucke-Grauls C.M., Kusters J.G.: Slaughter pigs are commonly infected by closely related but distinct gastric ulcerative lesion-inducing *Gastrospirilla*. *J. Clin. Microbiol.* 38: 2661–2664, 2000.
366. Ross H.M., Pawlina W.: *Histology: A text and atlas, with correlated cell and molecular biology*, 5 ed. Philadelphia, PA, Lippincott Williams and Wilkins. 524-534, 2006.
367. Rossi G., Rossi M., Vitali C.G., Fortuna D., Burrone D., Pancotto L., Capecchi S., Sozzi S., Renzoni G., Braca G., Del Giudice G., Rappuoli R., Ghiara P., Taccini E.: A conventional Beagle dog model for acute and chronic infection with *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun.* 67: 3112– 3120, 1999.
368. Rugge M., Correa P., Dixon M.F., Fiocca R., Hattori T., Lechago J., Leandro G., Price A.B., Sipponen P., Solcia E., Watanabe H.: Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading. *Alimentary pharmacology and therapeutics.* 16(7): 1249-1259, 2002.
369. Rugge M., Farinati F., Baffa R., Sonogo F., Di Mario F., Leandro G., Valiante F.: Interdisciplinary Group on Gastric Epithelial Dysplasia. Gastric epithelial dysplasia in the natural history of gastric cancer: a multicenter prospective follow-up study. *Gastroenterology.* 107(5): 1288-1296, 1994.
370. Rugge M., Leandro G., Farinati F., Mario F.D., Sonogo F., Cassaro M., Guido M., Ninfo V.: Gastric epithelial dysplasia. How clinicopathologic background relates to management. *Cancer.* 76(3): 376-382, 1995.
371. Rugge M., Genta R.M.: OLGA Group. Staging gastritis: an international proposal. *Gastroenterology.* 129: 1807-1808, 2005a.

372. Rugge M., Genta R.M.: Staging and grading of chronic gastritis. *Hum. Pathol.* 36: 228-33, 2005.
373. Ruiz B., Garay J., Johnson W., Li D., Rugge M., Dixon M.F., Genta R.M., Hattori T., Lechago J., Price A.B., Sipponen P., Solcia E., Watanabe H., Correa P.: Morphometric assessment of gastric antral atrophy: comparison with visual evaluation. *Histopathology.* 39: 235-242, 2001.
374. Sachs G., Weeks D.L., Wen Y., Marcus E.A., Scott D.R., Melchers K.: Acid acclimation by *Helicobacter pylori*. *Physiology.* 20: 429–438, 2005.
375. Sakamoto S., Watanabe T., Tokumaru T., Takagi H., Nakazato H., Lloyd KO.: Expression of Lewis^a, Lewis^b, Lewis^x, Lewis^y, siayl-Lewis^a, and sialyl-Lewis^x blood group antigens in human gastric carcinoma and in normal gastric tissue. *Cancer Res.* 49: 745–752, 1989.
376. Satin B., del Giudice G., Bianca V.D., Dusi S., Laudanna C., Tonello F., Kelleher D., Rappuoli R., Montecucco C., Rossi F.: The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor. *J. Exp. Med.* 191: 1467–1476, 2000.
377. Satoh K., Kimura K., Taniguchi Y., Yoshida Y., Kihira K., Takimoto T., Kawata H., Saifuku K., Ido K., Takemoto T., Ota M., Karita M., Sakaki N., Hoshihara Y.: Distribution of inflammation and atrophy in the stomach of *Helicobacter pylori*-positive and negative patients with chronic gastritis. *Am. J. Gastroenterol.* 91: 963–969, 1996.
378. Schmausser B., Andrulis M., Endrich S., Lee S.K., Josenhans C., Muller- Hermelink H.K., Eck M.: Expression and subcellular distribution of toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on the gastric epithelium in *Helicobacter pylori* infection. *Clin. Exp. Immunol.* 136: 521-526, 2004.
379. Schmees C., Prinz C., Treptau T., Rad R., Hengst L., Volland P., Bauer S., Brenner L., Schmid R.M., Gerhard M.: Inhibition of T-cell proliferation by *Helicobacter pylori* gamma-glutamyl transpeptidase. *Gastroenterology.* 132(5): 1820–1833, 2007.
380. Seder R.A., Paul W.E.: Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4* T cells. *Annu. Rev. Immunol.* 12: 635-673, 1994.
381. Samuelson A.D.: Digestive system 1, Oral cavity and alimentary canal In: Textbook of veterinary histology, 1st ed., St. Louis Mo., Saunders – Elsevier Inc. 325-332, 2007.

382. Senkovich O.A., Yin J., Ekshyyan V., Conant C., Traylor J., Adegboyega P., McGee D.J., Rhoads R.E., Slepnev S., Testerman T.L.: *Helicobacter pylori* AlpA and AlpB bind host laminin and influence gastric inflammation in gerbils. *Infect. Immun.* 79: 3106–3116, 2011.
383. Serrano C., Wright S.W., Bimczok D., Shaffer C.L., Cover T.L., Venegas A., Salazar M.G., Smythies L.E., Harris P.R., Smith P.D.: Downregulated Th17 responses are associated with reduced gastritis in *Helicobacter pylori*-infected children. *Mucosal Immunol.* 6: 950–959, 2013.
384. Seto K., Hayashi-Kuwabara Y., Yoneta T., Suda H., Tamaki H.: Vacuolation induced by cytotoxin from *Helicobacter pylori* is mediated by the EGF receptor in HeLa cells. *FEBS Lett.* 431: 347–350, 1998.
385. Sharma S.A., Tummuru M.K.R., Miller G.G., Blaser M.J.: Interleukin-8 response of gastric epithelial cell lines to *Helicobacter pylori* stimulation in vitro. *Infect. Immun.* 63: 1681–1687, 1995.
386. Sheu B., Odenbreit S., Hung K.H., Liu C.P., Sheu S.M., Yang H.B., Wu J.J.: Interaction between host gastric Sialyl-Lewis X and *H. pylori* SabA enhances *H. pylori* density in patients lacking gastric Lewis B antigen. *Am. J. Gastroenterol.* 101: 36–44, 2006.
387. Sheu B.S., Sheu S.M., Yang H.B., Huang A.H., Wu J.: Host gastric Lewis expression determines the bacterial density of *Helicobacter pylori* in babA2 genopositive infection. *Gut.* 52: 927–932, 2003.
388. Shirasaka D.: *Helicobacter pylori* VacA and gastric ulcer. *Int. J. Hematol.* 84: 316–318, 2006.
389. Shiu J., Blanchard T.G.: Dendritic cell function in the host response to *Helicobacter pylori* infection of the gastric mucosa. *Pathog. Dis.* 67: 46–53, 2013.
390. Shomer N.H., Dangler C.A., Whary M.T., Fox J.G.: Experimental *Helicobacter pylori* infection induces antral gastritis and gastric mucosa-associated lymphoid tissue in guinea-pigs. *Infect. Immun.* 66: 2614–2618, 1998.
391. Shuto R., Fujioka T., Kubota T., Nasu M.: Experimental gastritis induced by *Helicobacter pylori* in Japanese monkey. *Infect. Immun.* 61(3): 933–999, 1993.
392. Siddique I., Al-Qabandi A., Al-Ali J., Alazmi W., Memon A., Mustafa A.S., Junaid T.A.: Association between *Helicobacter pylori* genotypes and severity of chronic gastritis, peptic

- ulcer disease and gastric mucosal interleukin-8 levels: Evidence from a study in the Middle East. *Gut pathogens*. 6(1): 41, 2014.
393. Sidebotham R.L., Worku M.L., Karim Q.N., Dhir N.K., Baron J.H.: How *Helicobacter pylori* urease may affect external pH and influence growth and motility in the mucus environment: evidence from in-vitro studies. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 15(4): 395–401, 2003.
394. Šijački N., Pantić Jablan O., Pantić V.: *Morfologija domaćih životinja*, Naučna knjiga, Beograd. 227-230, 1985.
395. Singhal A.V., Sepulveda A.R.: *Helicobacter heilmannii* gastritis: a case study with review of literature. *Am. J. Surg. Pathol.* 29(11): 1537–1539, 2005.
396. Sipponen P., Price A.B.: The Sydney System for classification of gastritis 20 years ago. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 26(1): 31-34, 2011.
397. Sipponen P.: Natural history of gastritis and its relationship to peptic ulcer disease. *Digestion*. 51(1): 70-75, 1992.
398. Siurala M., Sipponen P., Kekki M.: *Campylobacter pylori* in a sample of Finnish population: relations to morphology and functions of the gastric mucosa. *Gut*. 29: 909-915, 1988.
399. Sjunnesson H., Sturegard E., Hynes S., Willen R., Feinstein R., Wadstrom T.: Five months persistence of *Helicobacter pylori* infection in guinea pigs. *APMIS*. 111: 634–642, 2003.
400. Slomiany B.L., Piotrowski J., Slomiany A.: Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide: suppression of caspase-3 and nitric oxide synthase-2 by omeprazole and sucralfate. *Inflammopharmacology*. 7: 163-177, 1999.
401. Smith T.G., Lim J.M., Weinberg M.V., Wells L., Hoover T.R.: Direct analysis of the extracellular proteome from two strains of *Helicobacter pylori*. *Proteomics*. 7: 2240–2245, 2007.
402. Smolka A.J., Backert S.: How *Helicobacter pylori* infection controls gastric acid secretion. *Journal of Gastroenterology*. 47(6): 609–618, 2012.
403. Solcia E., Capella C., Fiocca R., Cornaggia M., Rindi G., Villani L., Bosi F., Ambrosiani L.: Exocrine and endocrine epithelial changes in types A and B chronic gastritis. In *Helicobacter pylori*, gastritis and peptic ulcer. Springer, Berlin, Heidelberg. 245-258, 1990.

404. Solcia E., Rindi G., Silini E., Villani L.: Enterochromaffinlike (ECL) cells and their growths: relationships to gastrin reduced acid secretion and gastritis. *Baillieres Clin. Gastroenterol.* 7: 149-65, 1993.
405. Solnick J.V., O'Rourke J., Lee A., Paster B.J., Dewhirst F.E., Tompkins L.S.: An uncultured gastric spiral organism is a newly identified *Helicobacter* in humans. *J. Infect. Dis.* 168: 379–385, 1993.
406. Stein M., Bagnoli F., Halenbeck R., Rappuoli R., Fanti W.J., Covacci A.: c-Src/Lyn kinases activate *Helicobacter pylori* CagA through tyrosine phosphorylation of the EPIYA motifs. *Mol. Microbiol.* 43: 971–980, 2002.
407. Steinman R.M., Banchereau J.: Taking dendritic cells into medicine. *Nature.* 449: 419-426, 2007.
408. Stolke M., Wellens E., Bethke B., Ritter E., Eidt H.: *Helicobacter heilmannii* (formerly *Gastrospirillum hominis*) gastritis: An infection transmitted by animals. *Scand. J. Gastroenterol.* 29: 1061-1064, 1994.
409. Stolte M., Eidt S.: Chronic erosions of the antral mucosa: a sequela of *Helicobacter pylori*-induced gastritis. *Z. Gastroenterol.* 30: 846-850, 1992.
410. Stolte M., Eidt S.: Lymphoid follicles in antral mucosa: immune response to *Campylobacter pylori*? *J. Clin. Pathol.* 42: 1269-1271, 1989.
411. Stolte M., Kroher G., Meining A., Morner A., Bayerdorffer E., Bethke B.: A comparison of *Helicobacter pylori* and *H. heilmannii* gastritis. *Scand. J. Gastroenterol.* 32: 28–33, 1997.
412. Stolte M., Meining A.: The updated Sydney system: classification and grading of gastritis as the basis of diagnosis and treatment. *Can. J. Gastroenterol.* 15: 591-598, 2001.
413. Stolte M., Stadelmann O., Bethke B., Burkard G.: Relationships between the degree of *Helicobacter pylori* colonisation and the degree of gastritis, surface epithelial degeneration and mucus secretion. *Z. Gastroenterol.* 33: 89-93, 1995.
414. Strowig T., Henao-Mejia J., Elinav E., Flavell R.: Inflammasomes in health and disease. *Nature.* 481: 278–286, 2012.
415. Sugimoto M., Ohno T., Graham D., Yamaoka Y.: *Helicobacter pylori* outer membrane proteins on gastric mucosal interleukin 6 and 11 expression in Mongolian gerbils. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 26: 1677–1684, 2011.

416. Sugimura T., Sugano H., Terada M., Stemmermann G.N., Yasui W., Tahara E.: First International Workshop of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund: intestinal metaplasia and gastric cancer. *Mol. Carcinog.* 11: 1-7, 1994.
417. Suskind D., Wahbeh G., Murray K., Christie D., Kapur R.P.: Collagenous gastritis, a new spectrum of disease in pediatric patients: two case reports. *Cases J.* 10(2): 7511, 2009.
418. Suzuki T., Kato K., Ohara S., Noguchi K., Sekine H., Nagura H., Shimosegawa T.: Localization of antigen-presenting cells in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Pathol. Int.* 52: 265-271, 2002.
419. Swaby H., Gregory N.G.: A note on the frequency of gastric ulcers detected during post-mortem examination at a pig abattoir. *Meat Sci.* 90(1): 269-271, 2012.
420. Sycuro L.K., Wyckoff T.J., Biboy J., Born P., Pincus Z., Vollmer W., Salama N.R.: Multiple peptidoglycan modification networks modulate *Helicobacter pylori*'s cell shape, motility, and colonization potential. *PLoS Pathog.* 8(3): 1002603, 2012.
421. Szabo I., Brutsche S., Tombola F., Moschioni M., Satin B., Telford L.J., Rappuoli R., Montecucco C., Papini E., Zoratti M.: Formation of anion-selective channels in the cell plasma membrane by the toxin VacA of *Helicobacter pylori* is required for its biological activity. *EMBO J.* 18: 5517-5527, 1999.
422. Szabo I., Illes A., Godi S., Czimer J., Par G., Pakodi F., Marton B., Hegedus I., Kravjak A., Bogner B., Pajor L., Vincze A.: Gastritis staging in clinical practice by OLGA (Operative Link for Gastritis Assessment) system - Evaluation of gastric mucosal atrophy and metaplasia. *Z. Gastroenterol.* 50: 72, 2012.
423. Szeredi L., Palkovics G., Solymosi N., Tekes L., Méhesfalvi J.: Study on the role of gastric *Helicobacter* infection in gross pathological and histological lesions of the stomach in finishing pigs. *Acta Vet. Hung.* 53: 371-383, 2005.
424. Tabassam F.H., Graham D.Y., Yamaoka Y.: OipA plays a role in *Helicobacter pylori*-induced focal adhesion kinase activation and cytoskeletal re-organization. *Cell. Microbiol.* 10: 1008-1020, 2008.
425. Tagkalidis P., Royce S., Macrae F., Bhathal P.: Selective colonization by *Helicobacter pylori* of the deep gastric glands and intracellular canaliculi of parietal cells in the setting of chronic proton pump inhibitor use. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 14: 453-456, 2002.

426. Takeda K., Akira S.: Toll receptors and pathogen resistance. *Cell. Microbiol.* 5: 143–153, 2003.
427. Takeda K., Kaisho T., Akira S.: Toll-like receptors. *Annual Review of Immunology.* 21: 335–376, 2003.
428. Takeshima E., Tomimori K., Takamatsu R., Ishikawa C., Kinjo F., Hirayama T., Fujita J., Mori N.: *Helicobacter pylori* Vac A activates NF- κ B in T cells via the classical but not alternative pathway. *Helicobacter.* 14(4): 271–279, 2009.
429. Takeuchi O., Akira S.: Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 140: 805–820, 2010.
430. Takeuchi O., Hoshino K., Kawai T., Sanjo H., Takada H., Ogawa T., Takeda K., Akira S.: Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of Gram-negative and Gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity.* 11: 443–451, 1999.
431. Talarico S., Whitefield S.E., Fero J., Haas R., Salama N.R.: Regulation of *Helicobacter pylori* adherence by gene conversion. *Mol. Microbiol.* 84: 1050–1061, 2012.
432. Taub D.D., Oppenheim J.J.: Chemokines, inflammation and the immune system. *Ther. Immunol.* 1: 229–46, 1994.
433. Terebiznik M.R., Raju D., Vazquez C.L., Torbricki K., Kulkarni R., Blanke S.R., Yoshimori T., Colombo M.I., Jones N.L.: Effect of *Helicobacter pylori*'s vacuolating cytotoxin on the autophagy pathway in gastric epithelial cells. *Autophagy.* 5: 370–379, 2009.
434. Terebiznik M.R., Vazquez C.L., Torbicki K., Banks D., Wang T., Hong W., Blanke S.R., Colombo M.I., Jones N.L.: *Helicobacter pylori* VacA toxin promotes bacterial intracellular survival in gastric epithelial cells. *Infect. Immun.* 74: 6599–6614, 2006.
435. Terres A.M., Pajares J.M.: An increased number of follicles containing activated CD69+ helper T cells and proliferating CD71+ B cells are found in *H. pylori*-infected gastric mucosa. *Am. J. Gastroenterol.* 93: 579–583, 1998.
436. Thiberge J.M., Bedel A., Huerre M., Pichard F., Labigne A.: Comparison of several diagnostic tests for the detection of *Helicobacter* infection in swine. *Gut.* 41(1): 125, 1997.
437. Thomas J.E., Gibson G.R., Darboe M.K., Dale A., Weaver L.T.: Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet.* 340(8829): 1194–1195, 1992.

438. Thomson J.R., Friendship R.M.: Digestive system. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W., editors. Diseases of swine. Ames: John Wiley and Sons. 199-226, 2012.
439. Toller I.M., Neelsen K.J., Steger M., Hartung M.L., Hottiger M.O., Stucki M., Kalali B., Gerhard M., Sartori A.A., Lopes M., Muller A.: Carcinogenic bacterial pathogen *Helicobacter pylori* triggers DNA doublestrand breaks and a DNA damage response in its host cells. *Proc Natl. Acad. Sci. U S A.* 108(36): 14944–14949, 2011.
440. Torres V.J., Ivie S.E., McClain M.S., Cover T.L.: Functional properties of the p33 and p55 domains of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. *J. Biol. Chem.* 280: 21107–21114, 2005.
441. Tosi P., Filipe M.I., Luzi P., Miracco C., Santopietro R., Lio R., Sporza V., Barbini P.: Gastric intestinal metaplasia type III cases are classified as low grade dysplasia on the basis of morphometry. *The Journal of pathology.* 169(1): 73-78, 1993.
442. Tosi M.F., Czinn S.J.: Opsonic activity of specific human IgG against *Helicobacter pylori*. *J. Infect. Dis.* 162: 156–162, 1990.
443. Tummala S., Keates S., Kelly C.P.: Update on the immunologic basis of *Helicobacter pylori* gastritis. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 20: 592–597, 2004.
444. Tummuru M.K., Cover T.L., Blaser M.J.: Cloning and expression of a highmolecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect. Immun.* 61: 1799–809, 1993.
445. Turner N.C., Martin G.P., Marriot C.: The influence of native porcine gastric mucus gel on hydrogen ion diffusion, the effect of potentially ulcerogenic agents, *J. Pharm. Pharmacol.* 11: 776-780, 1985.
446. Uemura N., Okamoto S., Yamamoto S., Matsumura N., Yamaguchi S., Yamakido M., Taniyama K., Sasaki N., Schlemper R.J.: *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *New England Journal of Medicine.* 345(11): 784-789, 2001.
447. Unemo M., Aspholm-Hurtig M., Ilver D., Borgstrom J., Boren T., Danielsson D., Teneberg S.: The sialic acid binding SabA adhesin of *Helicobacter pylori* is essential for nonopsonic activation of human neutrophils. *The Journal of Biological Chemistry.* 280(15): 15390- 15397, 2005.

448. Utriainen M., Hanninen H.: Detection of *Helicobacter*-like bacteria in porcine gastric biopsy samples by amplification of 16S rRNA ureB, vacA and cagA genes by PCR. *Vet. Res. Commun.* 22: 373–383, 1998.
449. Vaananen H., Vauhkonen M., Helske T., Kaariainen I., Rasmussen M., Tunturi-Hihnala H., Koskenpato J., Sotka M., Turunen M., Sandstrom R., Ristikankare M., Jussila A., Sipponen P.: Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: a multicentre study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 15(8): 885–891, 2003.
450. Van de Bovenkamp J.H., Mahdavi J., Korteland-Van Male A.M., Buller H.A., Einerhand A.W., Boren T., Dekker J.: The MUC5AC glycoprotein is the primary receptor for *Helicobacter pylori* in the human stomach. *Helicobacter*. 8: 521–532, 2003.
451. Van den Brink G.R., Tytgat K., van der Hulst R., van der Loos C.M., Einerhand A., Buller H., Dekker J.: *H. pylori* colocalises with MUC5AC in the human stomach. *Gut*. 46: 601–607, 2000.
452. Vandamme P., Falsen E., Rossau R., Hoste B., Segers P., Tytgat R., De Ley J.: Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41: 88-103, 1991.
453. Viala J., Chaput C., Boneca I.G., Cardona A., Girardin S.E., Moran A.P., Athman R., Mémet S., Huerre M.R., Coyle A.J., Di Stefano P.S., Sansonetti P.J., Labigne A., Bertin J., Philpott D.J., Ferrero R.L.: Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *Nature Immunology*. 5: 1166–1174, 2004.
454. Walz A., Odenbreit S., Mahdavi J., Boren T., Ruhl S.: Identification and characterization of binding properties of *Helicobacter pylori* by glycoconjugate arrays. *Glycobiology*. 15: 700-708, 2005.
455. Walz A., Odenbreit S., Stuhler K., Wattenberg A., Meyer H.E., Mahdavi J., Boren T., Ruhl S.: Identification of glycoprotein receptors within the human salivary proteome for the lectin-like BabA and SabA adhesins of *Helicobacter pylori* by fluorescence-based 2-D bacterial overlay. *Proteomics*. 9: 1582–1592, 2009.
456. Wang C.A., Liu Y.C., Du S.Y., Lin C.W., Fu H.W.: *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein promotes myeloperoxidase release from human neutrophils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 377: 52-56, 2008.

457. Wang H.H., Helen H., Zeroogian J.M., Spechler S.J., Goyal R.K., Antonioli D.A.: Prevalence and significance of pancreatic acinar metaplasia at the gastroesophageal junction. *Am. J. Surg. Pathol.* 20: 1507-1510, 1996.
458. Warren J.D., Marshall B.J.: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet.* 1273-1275, 1983.
459. Watanabe T., Tada M., Nagai H., Sasaki S., Nakao M.: *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology.* 115(3): 642-648, 1998.
460. Wessler S., Backert S.: Molecular mechanisms of epithelial-barrier disruption by *Helicobacter pylori*. *Trends Microbiol.* 16: 397-405, 2008.
461. Whitehead R.: *Mucosal biopsy of the gastrointestinal tract*, 3rd ed. The W. B. Saunders Co., Philadelphia. 1984.
462. Willems G., Vansteenkiste Y., Limbosch J.M.: Stimulating effect of gastrin on cell proliferation kinetics in canine fundic mucosa. *Gastroenterology.* 62: 583-589. 1972.
463. Woodward M., Morrison C., McColl K.: An investigation into factors associated with *Helicobacter pylori* infection. *J. Clin. Epidemiol.* 53(2): 175-181, 2000.
464. Wotherspoon A.C.: Gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue and *Helicobacter pylori*. *Annu. Rev. Med.* 49: 289-299, 1998.
465. Wroblewski L.E., Shen L., Ogden S., Romero-Gallo J., Lapierre L.A., Israel D.A., Turner J.R., Peek R.M.: *Helicobacter pylori* dysregulation of gastric epithelial tight junctions by urease-mediated myosin II activation. *Gastroenterology.* 136: 236-246, 2009.
466. Wu M.S., Shun C.T., Lee W.C., Chen C.J., Wang H.P., Lee W.J., Lin J.T.: Gastric cancer risk in relation to *Helicobacter pylori* infection and subtypes of intestinal metaplasia. *British journal of cancer.* 78(1): 125-128, 1998.
467. Wu H., Nakano T., Daitoku E., Morita C., Kohno T., Lian H.H., Sano K.: Intrabacterial proton-dependent CagA transport system in *Helicobacter pylori*. *J. Med. Microbiol.* 54: 1117-1125, 2005.
468. Wunder C., Churin Y., Winau F., Warnecke D., Vieth M., Lindner B., Zahringer U., Mollenkopf H.J., Heinz E., Meyer T.F.: Cholesterol glucosylation promotes immune evasion by *Helicobacter pylori*. *Nat. Med.* 12: 1030-1038, 2006.

469. Wyatt J.I., Rathbone B.J., Sobala G.M., Shallcross T., Heatley R.V., Axon A.T.R., Dixon M.F.: Gastric epithelium in the duodenum: its association with *Helicobacter pylori* and inflammation. *J. Clin. Pathol.* 43: 981–986, 1990.
470. Wyatt J.I., Rathbone B.J.: Immune response of the gastric mucosa to *Campylobacter pylori*. *Scand. J. Gastroenterol.* 23(142): 44-49, 1988.
471. Yahiro K., Niidome T., Kimura M., Hatakeyama T., Aoyagi H., Kurazono H., Imagawa K., Wada A., Moss J., Hirayama T.: Activation of *Helicobacter pylori* VacA toxin by alkaline or acid conditions increases its binding to a 250-kDa receptor protein-tyrosine phosphatase beta. *J. Biol. Chem.* 274: 36693–36699, 1999.
472. Yahiro K., Wada A., Nakayama M., Kimura T., Ogushi K., Niidome T., Aoyagi H., Yoshino K., Yonezawa K., Moss J., Hirayama T.: Protein-tyrosine phosphatase alpha, RPTP alpha, is a *Helicobacter pylori* VacA receptor. *J. Biol. Chem.* 278: 19183–19189, 2003.
473. Yamaoka Y., Kikuchi S., El-Zimaity H.M.T., Gutierrez O., Osato M.S., Graham D.Y.: Importance of *Helicobacter pylori* oipA in clinical presentation, gastric inflammation and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterology.* 123: 414–424, 2002.
474. Yamaoka Y., Kita M., Kodama T., Sawai N., Tanahashi T., Kashima K., Imanishi J.: Chemokines in the gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection. *Gut.* 42: 609–617, 1998.
475. Yamaoka Y.: Increasing evidence of the role of *Helicobacter pylori* SabA in the pathogenesis of gastroduodenal disease. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2: 174–181, 2008.
476. Yamasaki L., Boselli-Grotti C.C., Alfieri A.A., Silva E.O., Oliveira R.L., Camargo P.L., Bracarense A.P.F.R.L.: Histological findings in swine pars esophagea and its *Helicobacter* spp. relationship *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(3): 553-560, 2009.
477. Yamasaki E., Wada A., Kumatori A., Nakagawa I., Funao J., Nakazama M., Hisatsune J., Kimura M., Moss J., Hirayama T.: *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin induces activation of the proapoptotic proteins Bax and Bak, leading to cytochrome c release and cell death, independent of vacuolation. *J. Biol. Chem.* 281: 11250–11259, 2006.
478. Yashimoto K., Okamoto S., Mukaida N., Murakami S., Mai M., Matsushima K.: Tumour necrosis factor- α and interferon- γ induce interleukin-8 production in human gastric cancer cell line through acting concurrently on AP-1 and NF- κ B-like binding sites of the IL-8 gene. *Biol. Chem.* 267: 22506-22511, 1992.

479. Ye D., Willhite D.C., Blanke S.R.: Identification of the minimal intracellular vacuolating domain of the *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. *J. Biol. Chem.* 274: 9277–9282, 1999.
480. Yeomans N.D., Kolt S.D.: *Helicobacter heilmannii* (formerly *Gastrospirillum*). Association with pig and human gastric pathology. *Gastroenterology*. 111: 244–247, 1996.
481. Yoon H., Kim N.: Diagnosis and management of high risk group for gastric cancer. *Gut Liver*. 9: 5–17, 2015.
482. Yoshiyama H., Nakazawa T.: Unique mechanism of *Helicobacter pylori* for colonizing the gastric mucus. *Microbes Infect.* 2(1): 55–60, 2000.
483. Zanfi C., Spanghero M.: Digestibility of diets containing whole ear corn silage for heavy pigs. *Livest. Sci.* 145: 287–291, 2012.
484. Zeng H., Carlson A.Q., Guo Y., Yu Y., Collier Hyams L.S., Madara J.L., Gewirtz A.T., Neish A.S.: Flagellin is the major proinflammatory determinant of enteropathogenic *Salmonella*. *Journal of immunology*. 171: 3668–3674, 2003.
485. Zeng H., Carlson A.Q., Guo Y., Yu Y., Collier Hyams L.S., Madara J.L., Gewirtz A.T., Neish A.S.: Flagellin is the major proinflammatory determinant of enteropathogenic *Salmonella*. *Journal of immunology*. 171: 3668–3674, 2003.
486. Zhang G., Ducatele R., Mihi B., Smet A., Flahou B., Haesenbrouck F.: *Helicobacter suis* affects the health and function of porcine gastric parietal cells. *Vet.Res.* 47(1): 101, 2016.
487. Zinner M.J., Couse N.F., Yeo C.J., Nick J.D., Antiohus C.: The effect of acute and chronic *Campylobacter pyloridis* exposure in 2 animal models. *Proc Keystone Colorado*, 1987.
488. Zou W.: Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat. Rev. Cancer*. 5: 263–274, 2005.

BIOGRAFIJA

Nataša Pejčinovska je rođena 02.04.1976 godine u Bitolju, R. Makedonija. Srednjoškolsko obrazovanje stiče u Bitolju, u poljoprivrednoj školi „Kuzman Šapkarev”, smer veterinarski tehničar. Akademske studije veterinarske medicine završila je na Fakultetu veterinarske medicine u Skoplju, 2007 godine sa prosečnom ocenom 8.00 i stekla zvanje doktor veterinarske medicine. Doktorske studije na Departmanu za veterinarsku medicinu Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu, upisuje školske 2010/11. godine. Od akademske 2009/2010. godine do danas radi u zvanju asistenta na Veterinarskom fakultetu u Bitolju na predmetu Histologija i embriologija.

Autor ili koautor je više naučnih radova nacionalnog i međunarodnog karaktera.

Govori engleski jezik.